



**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM**

**WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY
KATEDRA CHEMII NIEORGANICZNEJ I ANALITYCZNEJ**

ZAŁĄCZNIK 3

**AUTOREFERAT
PRZEDSTAWIAJĄCY OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH**

Agata Kryczyk-Poprawa

KRAKÓW 2020

Spis treści

1. Dane osobowe.....	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	4
4.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego	4
4.3. Prezentacja wyników stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego	8
4.3.1. Wprowadzenie	8
4.3.2. Cel naukowo-badawczy	14
4.3.3. Wyniki badań i dyskusja	15
4.3.4. Podsumowanie	28
4.3.5. Piśmiennictwo	29
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	34
5.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych	34
5.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych z uwzględnieniem informacji o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej	36
5.3. Podsumowanie całego dorobku naukowego	41
6. Działalność dydaktyczna.....	47
7. Działalność organizacyjna.....	48

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: **AGATA KRYCZYK-POPRAWA**

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2014 **doktor nauk farmaceutycznych**, specjalność: farmakokinetyka

rozprawa doktorska pt. „Badanie kinetyki procesu eliminacji wątrobowej DL76, nowego piperydynowego antagonisty receptora H₃ histaminowego u szczurów ”

Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie
Promotor – Prof. dr hab. Joanna Szymura-Oleksiak

2007 **magister farmacji**

praca magisterska pt. „Różne oblicza biologicznej roli glutationu”

Katedra Biochemii Lekarskiej
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie
Promotor – Prof. dr hab. Lidia Włodek

prawo wykonywania zawodu Farmaceuty

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

Miejsce zatrudnienia

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Przebieg zatrudnienia

2014 - obecnie **adiunkt** w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

2008 - 2013 **studia doktoranckie** w Zakładzie Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

OCENA WPŁYWU CZYNNIKÓW FIZYCZNYCH I CHEMICZNYCH NA STABILNOŚĆ WYBRANYCH SUBSTANCJI CZYNNYCH ZAWARTYCH W LEKACH DERMATOLOGICZNYCH

4.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

- Podstawę osiągnięcia naukowego w składanym wniosku w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego stanowi powiązany tematycznie cykl pięciu publikacji oryginalnych [H-1 – H-5] oraz jednej publikacji przeglądowej [H-6] powstałych w latach 2016-2020.
- W każdej pracy stanowiącej podstawę osiągnięcia naukowego jestem pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym.
- Żadna z publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego nie stanowiła przedmiotu innego postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.
- Sumaryczny współczynnik oddziaływania Impact Factor prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego [H-1 – H-6] wynosi **IF = 17,695**. Łączna suma punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi **MNiSW = 345**.
- Impact factor oraz punktację Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego podano zgodnie z rokiem opublikowania pracy. W przypadku prac opublikowanych w roku 2020 podano IF oraz punktację MNiSW dostępną w dniu złożenia wniosku o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego do Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów.
- Wyniki badań opublikowane w pracy [H-1] uzyskano dzięki finansowemu wsparciu Narodowego Centrum Nauki – Miniatura 2, 2018/02/X/NZ7/01016, czas trwania– 2018/2019.
Kierownik: dr Agata Kryczyk-Poprawa
Tytuł projektu: „Ocena wpływu promieniowania UV na fotostabilność retinoidów stosowanych na skórę w obecności substancji promieniochronnych”
- Wyniki badań opublikowane w pracach [H-2 – H-5] uzyskano dzięki finansowemu wsparciu Programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego: „Dotacja celowa dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich do 35 roku życia”, K/DSC/003522, czas trwania 2016-2018.
Kierownik: dr Agata Kryczyk
Tytuł projektu: „Badanie procesu fotokatalitycznej degradacji wybranych leków przeciwgrzybiczych z uwzględnieniem kinetyki tego procesu oraz identyfikacja powstających fotoproduktów”

Prace oryginalne

H-1 Kryczyk-Poprawa A^(*), Zupkó I, Bérdi P, Żmudzki P, Popiół J, Muszyńska B, Opoka W. Photostability testing of a third-generation retinoid — tazarotene in the presence of UV absorbers. *Pharmaceutics*, **2020**, 12(9):899. doi.org/10.3390/pharmaceutics12090899

IF₂₀₁₉: 4,421; MNiSW: 100

H-2 Kryczyk-Poprawa A^(*), Żmudzki P, Koczurkiewicz P, Pękala E, Hubicka U. Photostability of terbinafine under UVA irradiation: The effect of UV absorbers. *Photochemistry and Photobiology*, **2019**, 95(4):911-923. doi.org/10.1111/php.13075

IF₂₀₁₉: 2,761; MNiSW: 70

H-3 Kryczyk A^(*), Żmudzki P, Koczurkiewicz P, Piotrowska J, Pękala E, Hubicka U. The impact of ZnO and TiO₂ on the stability of clotrimazole under UVA irradiation: Identification of photocatalytic degradation products and *in vitro* cytotoxicity assessment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2017**, 145:283-292. doi.org/10.1016/j.jpba.2017.06.043

IF₂₀₁₇: 2,831; MNiSW: 35

H-4 Kryczyk A^(*), Żmudzki P, Hubicka U. Determination of bifonazole and identification of its photocatalytic degradation products using UPLC-MS/MS. *Biomedical Chromatography*, **2017**, 31(9). doi.org/10.1002/bmc.3955

IF₂₀₁₇: 1,688; MNiSW: 20

H-5 Kryczyk A^(*), Żmudzki P, Hubicka U. Determination of itraconazole and its photodegradation products with kinetic evaluation by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, **2016**, 30(11):1733-1743. doi.org/10.1002/bmc.3747

IF₂₀₁₆: 1,613; MNiSW: 15

Praca przeglądowa

H-6 Kryczyk-Poprawa A^(*), Kwiecień A, Opoka W. Photostability of topical agents applied to the skin: a review. *Pharmaceutics*, **2020**, 12(1):10. doi.org/10.3390/pharmaceutics12010010

IF₂₀₁₉: 4,421; MNiSW: 100

(*) autor korespondencyjny

Wyniki badań wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zaprezentowałam na następujących konferencjach naukowych międzynarodowych i krajowych:

Konferencje międzynarodowe

Kryczyk-Poprawa A, Muszyńska B, Opoka W.

Photostability of retinoids.

1st Hungarian-Polish Interdisciplinary Scientific Symposium, The pharmaceutical and biological potential of natural origin substances, Szeged, Hungary, 26-27.09.2019

Kryczyk-Poprawa A, Figińska J, Muszyńska B, Opoka W.

Photostability of topical antifungal agents.

21st International Medical Esperanto Congress, Hódmezővásárhely, Hungary, 17-18.07.2020

Konferencje krajowe

Kryczyk A, Żmudzki P, Hubicka U.

Badanie kinetyki procesu fotodegradacji itraconazolu oraz identyfikacja powstałych fotoproduktów techniką UPLC/MS/MS.

Konferencja „Współczesna analityka farmaceutyczna i biomedyczna w ochronie zdrowia”, Poznań, 17-18.09.2015

Kryczyk A, Żmudzki P, Hubicka U.

Wpływ promieniowania UVA na stabilność klotrimazolu w obecności substancji promieniochronnych.

Konferencja „Nowoczesna Kosmetologia – od Nauki do Biznesu”, Kraków, 28.05.2016

Kryczyk-Poprawa A, Piotrowska J, Berdys A, Opoka W.

Oznaczenie zawartości wybranych pierwiastków w żelach zawierających retinoidy.

Konferencja "Nowoczesne metody przygotowania prób i analizy wielopierwiastkowej - Zastosowanie technik sprzężonych z ICP-MS", Kraków, 24.09.2019

Publikacje stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego powstały we współpracy z ośrodkami naukowo-badawczymi w kraju i za granicą:

Department of Pharmacodynamics and Biopharmacy, University of Szeged, Hungary (**Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar**); Interdisciplinary Center for Natural Products, University of Szeged, Hungary – Prof. dr hab. István Zupkó, Dean of Faculty of Pharmacy

Department of Pharmacodynamics and Biopharmacy, University of Szeged, Hungary (**Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar**) – MSc Péter Bérdi

Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie – dr Paweł Żmudzki

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie – Prof. dr hab. Bożena Muszyńska

Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie – Prof. dr hab. Elżbieta Pękala, dr Paulina Koczurkiewicz-Adamczyk, mgr Justyna Popiół

Do wniosku o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dołączono oświadczenia współautorów prac określające merytoryczny wkład każdego z nich w ich powstanie (**Załącznik 5**).

4.3. Prezentacja wyników stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

4.3.1. Wprowadzenie

W pracach badawczo-rozwojowych dotyczących nowej substancji czynnej oraz produktu leczniczego jako priorytetowe badania traktuje się testy stabilności, które prowadzone są zgodnie z wyznaczonymi standardami. Na terenie całej Unii Europejskiej obowiązują wytyczne Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (*ang.* The International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use – ICH). Międzynarodowe regulacje opublikowane przez ICH zostały podzielone na cztery obszary: jakość (*ang.* Quality), bezpieczeństwo (*ang.* Safety), skuteczność (*ang.* Efficacy) oraz obszar interdyscyplinarny (*ang.* Multidisciplinary). Wytyczne odnośnie jakości dotyczą badań stabilności nowych substancji i produktów leczniczych oraz nowych postaci dawkowania [1]. Zgodnie z wytycznymi badania fotostabilności są od 1996 roku integralną częścią badań stabilności substancji czynnych i preparatów farmaceutycznych. Zasady przeprowadzania badań fotostabilności zostały opisane w przepisach ICH Q1B (*ang.* Photostability Testing of New Drug Substances and Products) [2]. W wielu publikacjach podejmowany jest jednak problem niewystarczająco szczegółowych wytycznych dotyczących przeprowadzania tych badań [3-7]. Nadrzędną rolą badań stabilności obejmujących testy fotostabilności jest dostarczenie cennych wskazówek dla przemysłu, w celu zapewnienia stabilności substancji czynnej leku podczas wszystkich etapów jego produkcji, pakowania, przechowywania oraz dystrybucji. Rezultaty uzyskane w badaniach stabilności substancji i produktu leczniczego stanowią gwarancję, że lek przechowywany prawidłowo z uwzględnieniem warunków środowiskowych (światło, wilgotność i temperatura) zachowa pełną skuteczność przez ustalony na ich podstawie okres ważności. Stabilność substancji leczniczej gwarantuje jakość, skuteczność i bezpieczeństwo stosowania leku przez pacjentów [8-10]. Prowadzone są również badania stabilności produktów leczniczych podczas ich używania przez pacjenta (*ang.* in-use stability testing) mające zapewnić odpowiednią jakość produktów w wielodawkowych pojemnikach po otwarciu przez wskazany okres czasu, o czym można przeczytać w dokumencie *ang.* The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Note For Guidance On In-Use Stability Testing Of Human Medicinal Products [11]. Autorzy publikacji naukowych zwracają jednak uwagę, iż wymienione wytyczne nie odnoszą się do fotostabilności leków po ich podaniu [4-7]. W cyklu publikacji dotyczących substancji czynnych wrażliwych na działanie światła: leków podawanych w iniekcjach [4], leków aplikowanych miejscowo [5] oraz leków do stosowania doustnego [6], autorzy zaproponowali nowe procedury do oceny fotostabilności oraz odpowiedniego oznakowania takich produktów farmaceutycznych, co ma na celu zapewnienie optymalnego ich stosowania przez pacjenta. W tym kontekście na szczególną uwagę zasługuje kwestia związana ze stabilnością leków dermatologicznych przeznaczonych do stosowania zewnętrznego, gdyż są one potencjalnie narażone na działanie światła. Promieniowanie UV może powodować fotodegradację substancji czynnej leku oraz oddziaływać na trwałość produktu leczniczego, co ma wpływ na obniżenie lub wręcz utratę działania farmakologicznego, a to

bezpośrednio przekłada się na skuteczność i bezpieczeństwo jego stosowania przez pacjenta. Fotostabilność leków jest również istotna ze względu na jej związek z reakcjami fototoksycznymi, czyli fotodermatozami egzogennymi powstałymi po zadziałaniu na skórę określonej substancji chemicznej i następnie jej ekspozycji na promieniowanie UV. Z tego względu zaleca się powiązanie testów fotostabilności z oceną fototoksyczności powstających produktów degradacji z zastosowaniem testów *in vitro*. Do oceny fototoksyczności wykorzystuje się najczęściej linie komórkowe fibroblastów mysich Balb/c 3T3 [12]. Reakcje fotoalergiczne lub fototoksyczne mogą być wywoływane przez m.in. antybiotyki, retinoidy, leki przeciwgrzybicze, niesteroidowe leki przeciwzapalne, czy substancje promieniochronne, takie jak benzofenony, pochodne kwasu cyjnamonowego [12,13].

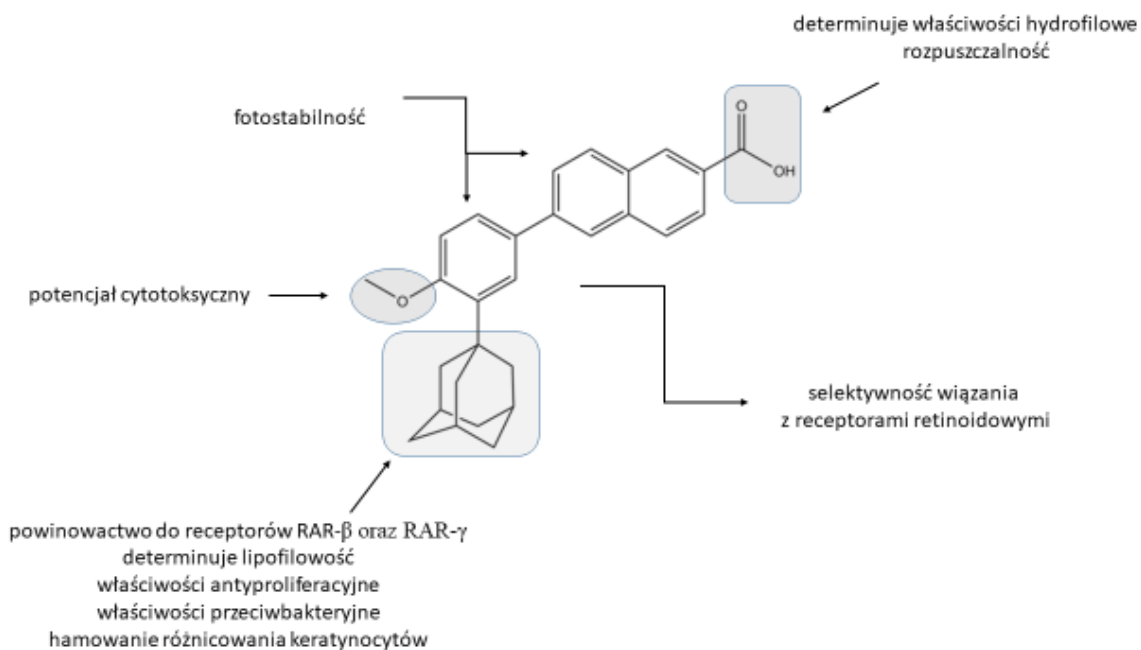
Choroby skóry są jednymi z najczęściej występujących schorzeń u ludzi i mimo, że często nie zagrażają bezpośrednio życiu pacjenta, mogą znacząco obniżyć poziom jakości życia chorego. Tematyka fotostabilności leków dotyczy w szczególności substancji leczniczych przeznaczonych do stosowania miejscowego w dermatologii, ponieważ aplikacja leku na powierzchnię skóry stwarza duże prawdopodobieństwo jego ekspozycji na promieniowanie UV. Na podstawie dokonanego przeglądu piśmiennictwa naukowego stwierdzono, że spośród wszystkich leków stosowanych w dermatologii przedmiotem szczegółowych badań fotostabilności już w latach 60. i 70. XX wieku były glikokortykosteroidy, dlatego uważa się, że podstawy współczesnej fotochemii związków organicznych zostały stworzone w dużej mierze w oparciu o uzyskane wyniki badań tej grupy leków [14]. Dane zawarte w piśmiennictwie naukowym dotyczą zarówno szczegółowej analizy fotostabilności glikokortykosteroidów wraz z analizą struktur produktów fotodegradacji i strategii ich fotostabilizacji [15-21], jak i oceny potencjalnie fototoksycznego działania produktów ich rozpadu [22-24]. Takie kompleksowe podejście do tematyki fotostabilności zostało zaimplementowane do przeprowadzonych przeze mnie badań. W świetle doniesień literaturowych dotyczących fotostabilności substancji czynnych leków dermatologicznych przeznaczonych do stosowania miejscowego, rozpoznano brak szczegółowych danych odnoszących się do substancji z grupy leków przeciwgrzybiczych oraz retinoidów. Substancje czynne tych grup leków obrałam jako cel badań stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego.

Lekami o szczególnym znaczeniu w terapii schorzeń skóry są leki przeciwgrzybicze. W terapii zakażeń grzybiczych stosowane są następujące grupy leków: pochodne azolowe doustne (itakonazol) oraz stosowane w leczeniu miejscowym (klotrimazol, bifonazol), pochodne alliloaminy (terbinafina), pochodne morfoliny (amorolfina) oraz polienowe leki przeciwgrzybicze (nystatyna, amfoterycyna B). Mechanizm działania najczęściej stosowanych leków przeciwgrzybiczych przeznaczonych do stosowania zewnętrznego – pochodnych azolowych i pochodnych alliloaminy – polega na hamowaniu syntezy ergosterolu, składnika błon komórkowych grzyba. Azole są inhibitorami 14- α -demetylazy lanosterolu, zatem blokują demetylację lanosterolu do ergosterolu, natomiast alliloaminy hamują epoksydazę skwalenową, co prowadzi do zahamowania syntezy ergosterolu. Terapię powierzchniowych zakażeń grzybiczych powodowanych przez dermatofity, grzyby drożdżopodobne oraz grzyby pleśniowe prowadzi się miejscowo lub/i systemowo [25]. W 1967 roku do terapii grzybic wprowadzono klotrimazol, co dało początek grupie leków azolowych. Do leków tych zalicza się

pochodne imidazolu, które stanowią obecnie największą grupę substancji przeciwgrzybiczych o szerokim zastosowaniu w leczeniu miejscowych grzybic skóry, oraz pochodne triazolu – itraconazol, który był pierwszym azolowym środkiem przeciwgrzybiczym aktywnym przeciw gatunkom z rodzaju *Aspergillus* [26]. Do grupy pochodnych alliloaminy zalicza się terbinafinę, która stosowana jest w leczeniu zakażeń grzybiczych paznokci oraz skóry wywołanych przez dermatofity. Na podstawie przeglądu dostępnego piśmiennictwa stwierdzono, że w przypadku substancji czynnych leków najczęściej stosowanych w terapii grzybic powierzchniowych, takich jak klotrimazol, bifonazol i terbinafina brakuje informacji dotyczących ich fotostabilności. Prace związane z tą tematyką znacznie poszerzyłyby wiedzę o lekach przeciwgrzybiczych i potencjalnych produktach ich degradacji. Do badań wybrano substancje czynne, takie jak klotrimazol, bifonazol oraz terbinafinę, które wchodziły w skład leków wydawanych w Polsce bez recepty, a zatem najłatwiej dostępnych dla pacjenta i najczęściej stosowanych. Ponadto badaniom poddano również itraconazol, który jest w Polsce zarejestrowany jedynie w postaci kapsułek, natomiast w piśmiennictwie naukowym dostępne są informacje o prowadzonych badaniach postaci farmaceutycznych o zastosowaniu miejscowym zawierających tę substancję czynną [27,28].

Wśród leków odgrywających kluczową rolę w nowoczesnej terapii schorzeń skóry są pochodne witaminy A. Retinoidy to grupa związków stosowanych nie tylko w dermatologii, ale też w kosmetologii, a powszechność ich stosowania wiąże się z faktem, iż wybrane retinoidy są substancjami czynnymi leków i produktów kosmetycznych dostępnych bez recepty. W 1982 roku pierwsza substancja z grupy retinoidów – izotretynoina, została zatwierdzona do stosowania, co stanowiło przełom w leczeniu trądziku. Retinoidy podzielone zostały na trzy generacje. I generacja to związki nie posiadające budowy aromatycznej (retinol, retinal, tretynoina i izotretynoina), II generacja to monoaromatyczne związki syntetyczne (acytretyna, etretynian i motretynid), III generacja to syntetyczne pochodne poliaromatyczne (adapalen, tazaroten i beksaroten). Retinoidy działają poprzez aktywację receptorów znajdujących się w jądrze komórkowym, co prowadzi do ekspresji odpowiednich genów. Wyróżnia się dwie rodziny receptorów: RAR– receptory dla kwasu retinowego oraz RXR– receptory retinoidowe X, a każdy z nich ma dodatkowo trzy podtypy (α , β i γ) [29]. Retinoidy pierwszej i drugiej generacji mogą wiązać się z kilkoma rodzajami receptorów, natomiast retinoidy trzeciej generacji charakteryzuje większa specyficzność receptorowa. Retinoidy stosowane są miejscowo w leczeniu trądziku pospolitego (tretynoina, izotretynoina i adapalen), w leczeniu łuszczycy (tazaroten) oraz w terapii skórniego chłoniaka T-komórkowego (beksaroten). Ponadto tazaroten został zarejestrowany do leczenia trądziku pospolitego w USA, natomiast w Europie jest zarejestrowany jedynie do leczenia łuszczycy, a stosowany pozarejestacyjnie (*ang.* off-label) w leczeniu trądziku. Retinoidy trzeciej generacji na skutek modyfikacji struktury chemicznej wykazują większą lipofilowość i fotostabilność oraz w mniejszym stopniu podrażniają skórę w porównaniu do pierwszej generacji. Retinoidy są grupą związków bardzo zróżnicowaną pod względem fotostabilności. Retinoidy pierwszej generacji, takie jak tretynoina i izotretynoina zostały wnikliwie przebadane pod względem fotostabilności. Ulegają one izomeryzacji pod wpływem promieniowania UV, ponadto są niestabilne termicznie i podatne na utlenienie, co spowodowane jest obecnością

sprzężonych wiązań podwójnych w cząsteczce. Wyniki badań dotyczących fotostabilności retinoidów pierwszej generacji, jak i metod ich fotostabilizacji zostały przedstawione w licznych publikacjach [30-36]. Spośród retinoidów III generacji powszechne zastosowanie w dermatologii znajdują adapalen i tazaroten. Retinoidy te są uznawane za fotostabilne. Badania fotostabilności tazarotenu, retinoidu o poliaromatycznej budowie, wykazały, że nie ulegał on degradacji zarówno w obecności światła, jak i zastosowanego czynnika utleniającego. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych zmian stężenia tazarotenu po naświetlaniu próbek promieniowaniem UVA i UVB, a ilość produktów degradacji była minimalna, dzięki czemu można go stosować w połączeniu z fototerapią w leczeniu łuszczycy [37]. Adapalen również jest chemicznie i fizycznie stabilny. Ocena fotostabilności tretinoiny i adapalenu w obecności nadtlenu benzoilu przeprowadzona przez Martin i współ. wykazała, że degradacja tretinoiny po 2 h naświetlania w warunkach eksperymentu wynosiła ponad 50%, a po 24 h aż 95%, natomiast adapalen pozostawał stabilny w warunkach eksperymentu [38]. Obie substancje były trwałe przy braku ekspozycji na promieniowanie UV+VIS. Adapalen jest pochodną kwasu naftalenokarboksylowego, a na jego unikatowe właściwości wpływa grupa amantadynowa, która warunkuje m.in. powinowactwo do odpowiednich receptorów jądrowych oraz lipofilowość [39,40]. Sztynna konformacja cząsteczki determinuje selektywność wiązania z receptorami retinoidowymi. Adapalen ma odmienną budowę od pozostałych retinoidów tej grupy, ale na podstawie podobnego mechanizmu działania zaliczany jest do retinoidów III generacji. Zależność pomiędzy strukturą adapalenu, a jego właściwościami przedstawiono na Rys. 1.



Rysunek 1. Zależność pomiędzy strukturą adapalenu, a jego właściwościami [39].

W oparciu o powyższe dane literaturowe dotyczące fotostabilności retinoidów przygotowałam wniosek w ramach konkursu Narodowego Centrum Nauki - Miniatura 2. Ze względu na to, że

retinoidy pierwszej generacji zostały już szczegółowo przebadane, badania nakierowałam na ocenę fotostabilności retinoidów III generacji. W badaniach wstępnych przeprowadzonych w ramach projektu Miniatura 2 wykazałam, że adapalen pozostawał stabilny w warunkach eksperymentu, dlatego w dalszych pracach skupiłam się głównie na ocenie procesu fotodegradacji tazarotenu.

Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego (Nr 1223/2009) w Unii Europejskiej zarejestrowanych jest 28 substancji promieniochronnych, które mogą być stosowane w kosmetykach [41]. W USA substancje promieniochronne stosowane w kosmetykach podlegają regulacjom produktów leczniczych wydawanych bez recepty lekarskiej [42]. Substancje promieniochronne stosowane w kosmetykach ochronnych zostały podzielone na dwie grupy: filtry UV fizyczne (tlenek cynku i ditlenek tytanu) oraz filtry UV chemiczne. Tlenek cynku został umieszczony na liście substancji promieniochronnych dozwolonych do stosowania w kosmetykach chroniących przed promieniowaniem słonecznym w 2016 roku na mocy załącznika VI Dyrektywy Unijnej (*ang.* Annex VI of Regulation (EC) No. 1223/2009) [41]. Zarówno ZnO jak i TiO₂ zostały zatwierdzone przez Komisję Europejską jako filtry UV również w formie nanocząstek. Wśród filtrów chemicznych wyróżnia się m.in. pochodne kwasu 4-aminobenzoowego (PABA), benzofenony, salicylany, pochodne kamfory oraz pochodne kwasu cytrynowego. W ochronie przeciwsłonecznej niezwykle istotne jest zagwarantowanie szerokiego spectrum ochrony skóry w zakresie promieniowania UVA (320 – 400 nm) oraz UVB (290 – 320 nm). Z tego względu preparaty ochronne zawierają często kombinacje filtrów zapewniających pokrycie całego pożądanego spektrum. Przykładem jest łączenie ditlenku tytanu, który stanowi ochronę przed UVA II (320-340 nm) i UVB oraz tlenku cynku chroniącego głównie przed promieniowaniem w zakresie UVA [43,44]. Ze względu na swoje właściwości filtry fizyczne są często wykorzystywane w kosmetykach o wysokich faktorach w maksymalnym dopuszczalnym stężeniu 25% (w/w). Należy zwrócić uwagę na fakt, iż tlenki te są powszechnie znanymi półprzewodnikami stosowanymi jako katalizatory i jedynie zastosowanie ich w formie powlekanej gwarantuje zredukowanie ich właściwości fotokatalitycznych. Ditlenek tytanu stosowany jest w formie powlekanej (np. krzemionką, tlenkiem glinu) o dopuszczalnej aktywności fotokatalitycznej 10% aktywności w porównaniu do standardu czyli formy niepowlekanej [45]. Tlenek cynku jest dopuszczony do stosowania w preparatach ochronnych w postaci powlekanej i niepowlekanej. Ditlenek tytanu i tlenek cynku znajdują się w składzie wielu kosmetyków, a także leków (maści, tabletek, kapsułek).

Dokonany w ostatnich latach postęp w dziedzinie fotochemii i fotobiologii przyczynił się do lepszego zrozumienia mechanizmów i konsekwencji oddziaływania promieniowania ultrafioletowego. Ogromne zainteresowanie naukowców tematem fotokatalizy w ciągu ostatniej dekady zaowocowało licznymi doniesieniami naukowymi dotyczącymi jej mechanizmów, nowych możliwości oraz potencjalnego zastosowania m.in. w medycynie (terapia fotodynamiczna, sterylizacja), oczyszczaniu środowiska i uzdatnianiu wody, czy też w licznych sektorach przemysłu. Fotokataliza jest definiowana jako zmiana w szybkości reakcji chemicznej, jak również jej zainicjowanie, w obecności fotokatalizatora na skutek działania promieniowania UV, VIS lub IR [46]. W przypadku zastosowania fotokatalizatorów TiO₂ oraz ZnO, o względnie wysokiej aktywności, proces degradacji najczęściej

zachodzi w warunkach heterogenicznych w obecności promieniowania UV. TiO_2 oraz ZnO wykazują optymalny zakres fotoaktywności przy długości fali poniżej 400 nm i mieści się on w zakresie UV światła słonecznego. Mechanizm działania fotokatalizatora oparty jest na absorpcji kwantu promieniowania o energii równej bądź większej od energii pasma wzbronionego, która dla odmiany polimorficznej TiO_2 anataz wynosi 3,2 eV, a dla ZnO 3,1 eV, czego konsekwencją jest wzbudzenie elektronu pasma walencyjnego do pasma przewodnictwa i powstanie pary: luka tzw. dziura elektronowa (h^+) w pasmie walencyjnym oraz wzbudzony elektron. Prowadzi to do zainicjowania reakcji utleniania i redukcji, wynikiem których może być generowanie rodników hydroksylowych ($\cdot\text{OH}$), anionorodników ponadtlenkowych ($\text{O}_2^{\cdot-}$), które są prawdopodobnie głównymi czynnikami utleniającymi. Rodniki hydroksylowe, posiadają wysoki potencjał oksydacyjny (2,8V), znacznie wyższy od innych czynników utleniających np. ozonu (2,07V), reagują nieselektywnie powodując degradację substratów do związków prostszych. Ponadto luki elektronowe (h^+) są odpowiedzialne za powstawanie kationorodników organicznych, które powstają poprzez utlenianie substancji zaadsorbowanych na powierzchni katalizatora [47-49]. Fotokatalityczna degradacja może prowadzić ostatecznie do mineralizacji substancji organicznych. Na efektywność procesu fotodegradacji substancji czynnej leku mogą więc wywierać wpływ substancje pomocnicze lub współobecne. Jednocześnie wiadomo, że można modyfikować fotostabilność substancji poprzez różne strategie np. enkapsulację, dodatek antyoksydantów czy substancji promieniochronnych [50-53]. Z tego względu rozważania nad fotostabilnością substancji czynnych leków stosowanych w dermatologii będących przedmiotem badań prowadzono z uwzględnieniem wpływu substancji, takich jak tlenek cynku i ditlenek tytanu, jak również substancji promieniochronnych z grupy organicznych filtrów UV. Na przebieg procesu fotodegradacji w sposób zróżnicowany wpływa również obecność jonów metali [54-56]. Ze względu na dane wskazujące na wzrost wydajności procesu fotokatalitycznego w obecności jonów Fe(III) oceniono poddano układ zawierający jednocześnie fotokatalizator – tlenek tytanu(IV) oraz jony żelaza(III) [57,59].

4.3.2. Cel naukowo-badawczy

W nowoczesnym podejściu do badań fotostabilności stosuje się kompleksową analizę stabilności substancji czynnych w warunkach promieniowania UV wraz z oceną potencjalnych interakcji ze składnikami współobecnyymi i oceną cytotoksyczności produktów degradacji, gdyż w wyniku reakcji chemicznych indukowanych promieniowaniem UV mogą powstawać niestabilne, wysoce reaktywne produkty o nieznannej aktywności i toksyczności. Celem badań składających się na przedstawione osiągnięcie habilitacyjne była ocena fotostabilności wybranych substancji czynnych z grupy leków przeciwgrzybiczych i retinoidów przeznaczonych głównie do stosowania zewnętrznego w leczeniu schorzeń skóry z uwzględnieniem wpływu substancji współobecnych. Opisane badania zostały poprzedzone opracowaniem i zwalidowaniem metod analitycznych służących do oznaczania badanych związków techniką UHPLC. Kompleksowe spojrzenie na prezentowaną tematykę badań wymagało również identyfikacji struktur produktów powstających podczas fotodegradacji badanych substancji czynnych oraz oceny ich potencjalnej cytotoksyczności.

Szczegółowe cele prac oryginalnych obejmują:

- opracowanie i walidację oryginalnych metod UHPLC/MS/MS do analizy ilościowej wszystkich badanych substancji czynnych (tazaroten, terbinafina, klotrimazol, bifonazol, itrakonazol) w obecności produktów rozkładu [H-1, H-2, H-3, H-4, H-5]
- ocenę fotostabilności wybranych substancji czynnych w próbkach zawierających samą substancję czynną, jak również w obecności jonów metali [H-5] oraz tlenku cynku lub/i ditlenku tytanu [H-1, H-2, H-3, H-4, H-5]
- określenie wpływu substancji promieniochronnych na fotostabilność substancji badanych obecnych w roztworach, gotowych produktach leczniczych lub przygotowanych formułacjach w warunkach promieniowania UVA [H-2, H-3, H-4] lub UV [H-1]
- wyznaczenia parametrów kinetycznych dotyczących procesu fotodegradacji wybranych substancji czynnych leków oraz ocenę wpływu substancji współobecnych na efektywność tego procesu [H-2, H-3, H-4, H-5]
- zaproponowanie prawdopodobnych struktur produktów degradacji wyżej wymienionych badanych substancji [H-1, H-2, H-3, H-4, H-5]
- pozyskanie wiedzy na temat poprawy stabilności substancji czynnych leków w określonych połączeniach z substancjami współobecnyymi [H-1, H-2]
- ocenę cytotoksyczności produktów fotodegradacji badanych substancji w oparciu o test MTT z zastosowaniem komórek ludzkich fibroblastów (BJ) ATCC/ATCRL-2522 [H-2, H-3]
- ocenę właściwości cytotoksycznych tazarotenu i produktów jego fotodegradacji w stosunku do komórek nowotworowych estrogenoniezależnego raka piersi (MDA-MB-231), raka szyjki macicy (HeLa) oraz raka jajnika (A2780) [H-1].

4.3.3. Wyniki badań i dyskusja

H-1. Photostability Testing of a Third-Generation Retinoid—Tazarotene in the Presence of UV Absorbers. *Pharmaceutics* 2020, 12: 899

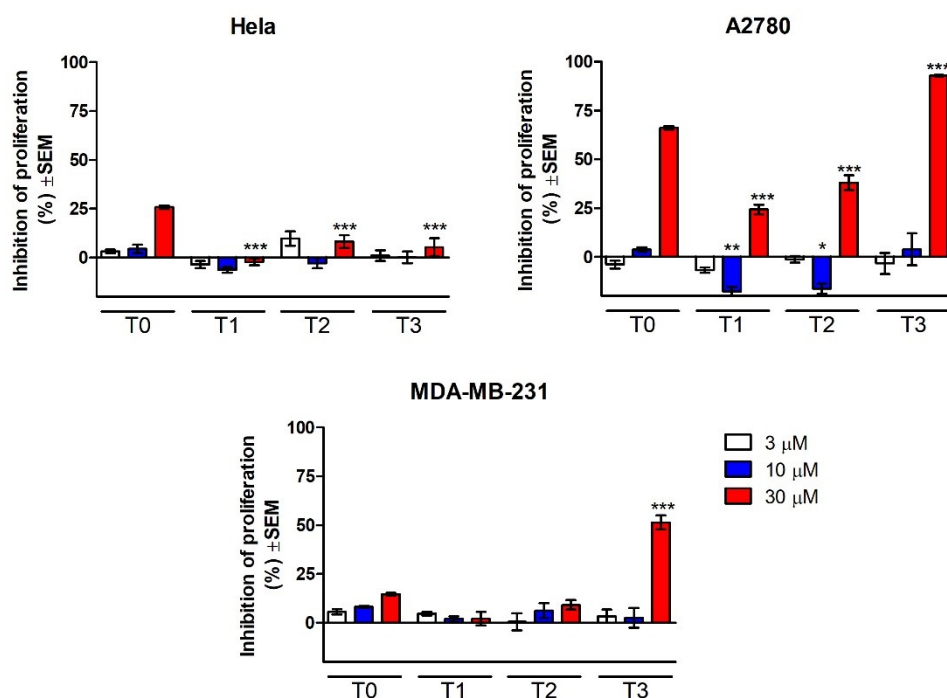
Retinoidy przeznaczone do stosowania miejscowego są lekami pierwszego rzutu w terapii trądziku pospolitego (łac. *acne vulgaris*) [60,61]. W USA Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) zatwierdziła cztery retinoidy przeznaczone do stosowania miejscowego w leczeniu trądziku: adapalen, tazaroten i tretynoinę oraz w 2019 roku trifaroten [60,62]. Tazaroten (ester etylowy kwasu 6[-(4,4-dimetylotiochroman-6-yl)-etinylo]-nikotynowego) jest retinoidem III generacji zarejestrowanym w Polsce w leczeniu przewlekłej łuszczycy plackowatej, zajmującej nie więcej niż 10% powierzchni ciała, ale stosowany jest pozarejestacyjnie również w leczeniu trądziku. Pomimo, iż lek ten jest powszechnie uważany za fotostabilny, z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika jednak brak szczegółowej analizy dotyczącej jego fotostabilności.

W niniejszej pracy podjęto próbę oceny fotostabilności tazarotenu w roztworze etanolemowym uwzględniając również obecność nanocząstek ditlenku tytanu i tlenku cynku oraz substancji promieniochronnych z grupy pochodnych benzofenonów (benzofenon-1, benzofenon-2, benzofenon-3 (oksybenzon), benzofenon-4 (sulisobenzon)). Ponadto w badaniach wykorzystano butylometoksydibenzoilometan (nazwa handlowa avobenzon) – jeden z najpopularniejszych filtrów UVA, który ze względu na znaczną fotodegradację pod wpływem promieniowania UV jest stosowany w połączeniu z innym filtrem UV o działaniu fotostabilizującym – oktokrylenem. Badanie fotostabilności przeprowadzono w aparacie do przyspieszonych badań starzeniowych SUNTEST CPS+ (Niemcy), wyposażonym w optyczny filtr odcinający promieniowanie o długości fal krótszych niż 290 nm i filtr blokowy IR do neutralizacji efektów termicznych. Całkowita dawka promieniowania UV wynosiła 218 kJ/m². Zastosowanie komory umożliwiło symulowanie naturalnego światła słonecznego działającego na zewnątrz pomieszczeń. Oznaczenie ilościowe tazarotenu w obecności produktów jego degradacji przeprowadzono techniką UHPLC/MS/MS. Metodę zvalidowano w zakresie selektywności, liniowości, granicy wykrywalności i oznaczalności, dokładności oraz precyzji, a otrzymane wyniki zostały poddane ocenie statystycznej. Opracowana metoda spełnia kryteria walidacji dla metod analitycznych.

Tazaroten w obecności tlenku cynku lub/i ditlenku tytanu w warunkach promieniowania UV ulegał fotokatalitycznej degradacji. Dzięki zastosowaniu spektrometrii mas ustalono prawdopodobne struktury jedenastu produktów degradacji tazarotenu. Stwierdzono, że proces degradacji dotyczył przede wszystkim fragmentu 4,4-dimetylo-3,4-dihydro-2H-tiopiranu. Na proces utleniania najbardziej podatne były grupy metylowe oraz atom siarki. Utlenianie grup metylowych doprowadziło do powstania produktów degradacji - TP-1 – TP-5, TP-7, TP-9 i TP-10, natomiast utlenienie atomu siarki do reszty sulfotlenku i sulfonu zaobserwowano w produktach degradacji TP-1 – TP-8. Eliminację

ugrupowania estrowego opisano tylko dla produktu TP-11. Produkty TP-6 i TP-8 pojawiały się jako pierwsze i dominowały pod względem ilościowym. TP-6 został wcześniej opisany jako hipotetyczny produkt utleniania tazarotenu nadtlaniem wodoru oraz jego fotolizy [63], ponadto produkty TP-6 i TP-8 zostały opisane jako produkty degradacji tazarotenu powstające w warunkach stresowych [64]. W badaniach fotostabilności tazarotenu w obecności organicznych filtrów UV wykazano, iż w warunkach eksperymentu tazaroten pozostawał stabilny we wszystkich analizowanych przypadkach, z wyjątkiem dodatku benzofenonu-4. Na chromatogramach zarejestrowanych dla próbek zawierających tazaroten i benzofenon-4 po naświetlaniu promieniowaniem UV zaobserwowano dwa dodatkowe piki, którym na widmie masowym odpowiadał $m/z=412,18$ (TP-1) oraz $m/z=368,18$ (TP-6). Nie zaobserwowano degradacji tazarotenu w próbkach dark control, co wskazuje na stabilność tazarotenu w przypadku braku działania promieniowania UV. Dla wszystkich potencjalnych produktów degradacji tazarotenu wykonano również analizę toksyczności metodą *in silico* oceniając ryzyko toksyczności pod względem mutagenności, kancerogenności, teratogenności oraz właściwości drażniących skórę przy użyciu programu OSIRIS Property Explorer [65]. Pięć produktów degradacji: TP-2, TP-3, TP-4, TP-7 i TP-8 może wykazywać potencjalne działanie teratogenne, jeden – TP-10 działanie drażniące na skórę.

W badaniach przedklinicznych wykazano, że tazaroten hamuje wzrost różnych linii ludzkich komórek nowotworowych m.in. raka szyjki macicy i piersi [61], dlatego ocenę właściwości cytotoksycznych produktów degradacji tazarotenu przeprowadzono testem MTT w stosunku do komórek nowotworowych estrogenoniezależnego raka piersi (MDA-MB-231), raka szyjki macicy (HeLa) oraz raka jajnika (A2780). Na Rys. 2 przedstawiono zmiany zdolności do podziałów komórkowych (stopień proliferacji) hodowli komórkowych poddanych działaniu tazarotenu po jego fotokatalitycznej degradacji. Zastosowano roztwór tazarotenu w trzech stężeniach: 3, 10 i 30 μM oraz trzy czasy naświetlania (T0 – próba kontrolna, T1 – 0,5 h naświetlania, T2 – 1 h naświetlania i T3 – 2 h naświetlania). Działanie antyproliferacyjne zależne od czasu i stężenia wykazano dla linii komórkowych raka jajnika (A2780) i piersi (MDA-MB-231). W przypadku komórek A2780 wykazano znaczne zahamowanie proliferacji przy stężeniu 30 μM tazarotenu (próba kontrolna, bez naświetlania). W przypadku komórek HeLa zaobserwowano zależne od stężenia działanie antyproliferacyjne tazarotenu bez naświetlania, które po 0,5h, 1h oraz 2h napromieniowywania ulegało zmniejszeniu. Dla linii komórkowych A2780 i MDA-MB-231 roztwory T3 skuteczniej hamowały proliferację komórek w porównaniu do T1 i T2, co wskazuje na powstawanie podczas naświetlania roztworu tazarotenu produktów fotokatalitycznej degradacji o silniejszych właściwościach antyproliferacyjnych od leku wyjściowego. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż w efekcie fotodegradacji mogą powstać produkty o nieznannej toksyczności. Ponadto produkty fotodegradacji mogą różnić się lipofilowością i masą cząsteczkową od substancji czynnej leku, a te właściwości mogą wpływać na ich przenikanie przez skórę.



Rysunek 2. Zmiany stopienia proliferacji dla nowotworowych linii HeLa, A2780 i MDA-MB-231 pod wpływem roztworów zawierających tazaroten w trzech stężeniach początkowych: 3, 10 i 30 μM , po różnych czasach ich naświetlania (T0 – próba kontrolna, T1 – 0,5 h naświetlania, T2 – 1 h naświetlania i T3 – 2 h naświetlania). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ i *** $p < 0,001$

H-2. Photostability of Terbinafine Under UVA Irradiation: The Effect of UV Absorbers. *Photochem Photobiol.* 2019, 95(4): 911-923

Kontynuacją tematyki związanej z wpływem substancji promieniochronnych na fotostabilność substancji czynnych leków była ocena stabilności terbinafiny w warunkach promieniowania UVA w obecności nanocząstek TiO_2 i/lub ZnO , butylometoksydibenzoilometanu (avobenzone), 3-(4-metylobenzylideno)kamfory, oktokrylenu, benzofenonu-1 oraz benzofenonu-2. Promieniowanie UVA (320 - 400 nm) jest składową promieniowania ultrafioletowego obok promieniowania UVB (280 - 320 nm) oraz UVC (100 - 280 nm). Promieniowanie UVA stanowi 95% promieniowania ultrafioletowego, które dociera do powierzchni ziemi, jest obecne przez cały rok, i ma istotne znaczenie, gdyż przenika aż do warstwy skóry właściwej. Badania fotostabilności terbinafiny przeprowadzono w komorze klimatycznej do testów stabilności z oświetleniem zgodnym z wytycznymi Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi – promieniowanie UVA o zakresie długości fali od 320 do 400 nm, z maksimum przy 365 nm,

wilgotność 60% i temperatura 25°C. Natężenie promieniowania było mierzone przy użyciu radiometru.

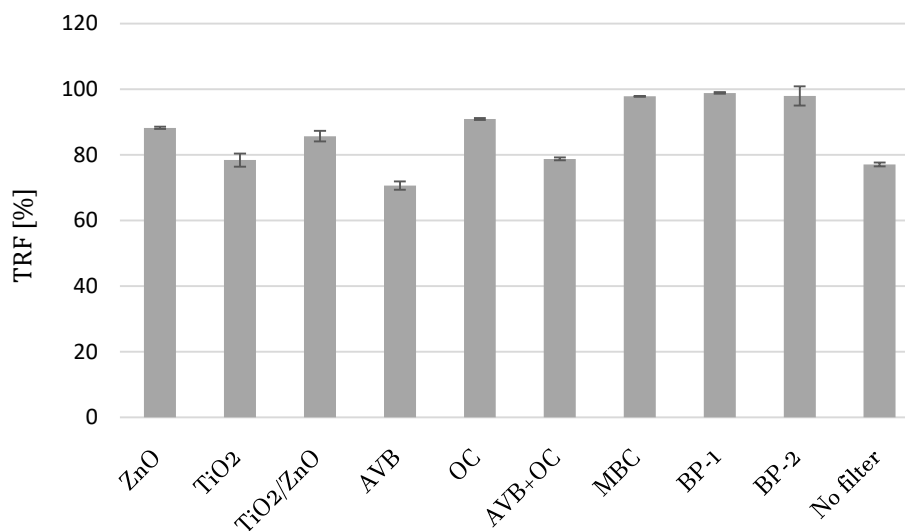
Chlorowodorek terbinafiny jest syntetycznym lekiem z grupy alliloamin, który ze względu na swoje szerokie spektrum działania jest powszechnie stosowany w leczeniu dermatofitoz wywoływanych przez rodzaje *Trichophyton*, *Microsporum* i *Epidermophyton* [66]. Terbinafina jest stosowana doustnie lub miejscowo w monoterapii, jak również w terapii skojarzonej z doustnymi lekami przeciwgrzybiczymi. Pozorna objętość dystrybucji dla terbinafiny wynosi ponad 20 L kg⁻¹, co jest związane m.in. z akumulacją leku w skórze, paznokciach i tkance tłuszczowej, oraz wysokim stężeniem leku w warstwie rogowej naskórka, które utrzymuje się do kilku tygodni po zakończeniu leczenia [66,67]. Ze względu na liczne doniesienia o związku terbinafiny z nadwrażliwością na światło słoneczne, indukcją podostrej skórnej postaci tocznia rumieniowatego (SCLE), pokrzywki wyzwalanej przez promieniowanie UVB, związek ten wybrano do badań fotostabilności [68,69]. Badania przeprowadzono w roztworze etanolowym oraz przygotowanych formułacjach (lanolina 0,5 g; kwas stearynowy 0,4 g; parafina 0,95 g; glikol propylenowy 0,52 g; trietanolamina 0,1 g; woda destylowana 7,43 g) zawierających terbinafinę (10 mg g⁻¹) z dodatkiem badanych substancji promieniochronnych (1 %, w/w) lub ZnO lub/i TiO₂ (5 %, w/w).

Badanie fotostabilności zostało poprzedzone opracowaniem, walidacją i oceną statystyczną metody UHPLC/MS/MS oznaczania terbinafiny w obecności produktów jej degradacji. Ponadto sprawdzono selektywność metody w stosunku do zastosowanych substancji promieniochronnych oraz składników formułacji zarówno przed i po naświetlaniu promieniowaniem UVA.

Do opisu kinetyki procesu fotokatalitycznej degradacji w obecności katalizatorów, takich jak nanocząstki TiO₂ lub ZnO pod wpływem promieniowania UV zastosowanie znajduje model Langmuira-Hinshelwooda. W rozcieńczonych roztworach stopień pokrycia substratem powierzchni katalizatora jest niewielki, zatem w tym przypadku kinetykę reakcji opisuje się zgodnie z kinetyką *pseudo*-pierwszego rzędu [58]. Fotokatalityczna degradacja terbinafiny w roztworze etanolowym przebiegała według ww. kinetyki. Obliczone wartości stałych szybkości procesu fotodegradacji terbinafiny były zależne od początkowego stężenia tej substancji badanej. Czas połowicznej przemiany wynosił 19,86 h oraz 32,08 h odpowiednio dla stężenia początkowego terbinafiny 0,05 mg mL⁻¹ i 0,1 mg mL⁻¹.

Terbinafina w roztworze etanolowym pozostawała stabilna po 24 h zarówno w warunkach działania promieniowania UVA jak również w próbkach dark control. Badana substancja ulegała degradacji jedynie w przypadku obecności ZnO, TiO₂, ZnO/TiO₂ lub oktokrylenu po naświetlaniu promieniowaniem UVA. Analogiczne badania przeprowadzono dla sporządzonych formułacji zawierających terbinafinę lub terbinafinę wraz z substancjami promieniochronnymi, które rozprowadzano na kwarcowych płytkach w postaci warstwy 2 mg cm⁻², a następnie poddano naświetlaniu promieniowaniem UVA przez 6 godzin. Terbinafina w opisanych warunkach eksperymentu uległa częściowej degradacji pod wpływem promieniowania UVA. Na Rys. 3

przedstawiono zawartości terbinafiny w przygotowanych formulacjach oznaczone po przeprowadzonym eksperymencie.



Rysunek 3. Zawartość terbinafiny w przygotowanych formulacjach zawierających badaną substancję i wybrane substancje promieniochronne, rozprowadzonych na szkiełkach kwarcowych (2 mg cm^{-2}) oznaczona po 6 godzinach naświetlania promieniowaniem UVA w komorze klimatycznej oraz w próbkach dark control, wyrażona jako procent jej ilości początkowej.

Ze względu na obserwowaną degradację badanej substancji przeprowadzono analizę statystyczną otrzymanych wyników. Wykazano różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) w trwałości badanego związku w zależności od zastosowanej substancji promieniochronnej. Trzy związki: benzofenon-1, benzofenon-2 oraz 3-(4-metylobenzylideno)kamfora wykazały działanie fotostabilizujące, w ich obecności fotodegradacja substancji czynnej w przygotowanej formulacji była znacząco mniejsza w porównaniu do próby kontrolnej (terbinafiny bez dodatku substancji promieniochronnej). W pozostałych przypadkach zastosowane substancje promieniochronne pozostawały bez wpływu na stopień fotodegradacji terbinafiny.

Zaproponowano dziewięć prawdopodobnych struktur produktów fotokatalitycznej degradacji terbinafiny w roztworze etanolowym, które oznaczono TP-1 – TP-9 (Tabela 1 przedstawiona w pracy **H-2**). Dwie dodatkowe struktury zostały opisane w przypadku degradacji badanej substancji w przygotowanej formulacji (TP-11, TP-12) w warunkach eksperymentu. Proces fotokatalitycznej degradacji terbinafiny przebiegał głównie poprzez utratę łańcucha bocznego (E)-N,6,6-trimetylo-2-hepten-4-yn-1-aminy (TP-4) na drodze oksydacyjnej deaminacji, co prowadziło do powstania 1-metylo-aminometylo-naftalenu (TP-2) lub 1-naftalenometanolu (TP-1). Ponadto powstał izomer - Z-terbinafina – produkt TP-6.

Wykonano również badanie cytotoksyczności roztworów terbinafiny poddanych działaniu promieniowania UVA w obecności TiO_2 z zastosowaniem badań *in vitro* na podstawie oceny żywotności komórek ludzkich fibroblastów (BJ) ATCCTMCRL-2522. Przeprowadzona ocena statystyczna wyników testu MTT wskazuje na brak różnic w żywotności komórek analizowanej linii.

W przeprowadzonych badaniach wykazano różnice w fotostabilności terbinafiny w roztworze i przygotowanej formulacji, jak również wykazano wpływ substancji współobecnych (substancji promieniochronnych) na jej trwałość.

H-3. The impact of ZnO and TiO_2 on the stability of clotrimazole under UVA irradiation: Identification of photocatalytic degradation products and *in vitro* cytotoxicity assessment. *J Pharm Biomed Anal.* 2017, 145: 283-292

Klotrimazol (1-[(2-chlorofenyl)-difenylometylo]-1H-imidazol), to lek z grupy pochodnych azolowych o szerokim spectrum działania przeciwgrzybiczego, stosowany w terapii m.in. zakażeń skóry dermatofitami (rodzaje *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporum spp.*), drożdżakami (rodzaj *Candida spp.* i *Malassezia furfur*) oraz grzybami pleśniowymi (*Aspergillus spp.*). Najnowsze doniesienia dotyczą badań potencjalnego zastosowania tego leku w terapii anemii sierpowatej, malarii, choroby beri-beri i raka [70]. Klotrimazol został sklasyfikowany jako substancja niebezpieczna w rozumieniu Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 1272/2008 (E.C, 2008a): I) zagrożenie krótkotrwałe dla środowiska wodnego H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, II) H410 – stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego – zagrożenie przewlekłe, III) H302 – toksyczność ostra (droga pokarmowa), kategoria zagrożenia 4 [71]. Klotrimazol nie jest podatny na fotolizę, a ze względu na jego znaczną trwałość w środowisku (czas połowicznego rozpadu wynosi ponad 60 dni), badania procesu fotokatalitycznej degradacji tego leku są istotne również w kontekście rozważań nad usuwaniem zanieczyszczeń organicznych, w tym leków, ze środowiska naturalnego szczególnie metodami przyjaznymi dla środowiska, czyli m.in. technologiami zaawansowanego utleniania [72,73].

Badania fotodegradacji klotrimazolu przeprowadzono w roztworze metanolowym oraz buforze fosforanowym o różnych wartościach pH (niskie wartości pH otrzymano poprzez dodatek kwasu fosforowego(V)), w obecności nanocząstek ZnO i TiO_2 w komorze klimatycznej do testów stabilności z oświetleniem zgodnym z wytycznymi Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi – promieniowanie UVA, temperatura 25°C i wilgotność 60%. Badania poprzedzono opracowaniem i zwalidowaniem metody oznaczania klotrimazolu w obecności produktów jego degradacji techniką UHPLC/MS/MS.

Realizacja celu badań wiązała się z oceną wpływu pH roztworu oraz rodzaju rozpuszczalnika na szybkość procesu fotokatalitycznej degradacji substancji badanej. Klotrimazol to słaba zasada,

występuje w formie zjonizowanej przy niskich wartościach pH, dlatego do badań wybrano roztwory o pH 2; 3; 3,5 oraz 4,5. Wpływ pH roztworu, w którym zachodzi reakcja fotokatalitycznej degradacji jest jednak bardzo złożony, gdyż dotyczy on zarówno właściwości powierzchniowych katalizatora np. TiO_2 , jak i ładunku substancji, co znajduje odzwierciedlenie w wartości stałej szybkości reakcji. Z tego powodu powinien on być rozpatrywany indywidualnie dla każdego związku. Fotodegradacja klotrimazolu w metanolu oraz w roztworze buforu fosforanowego w obecności TiO_2/ZnO w warunkach promieniowania UVA przebiegała zgodnie z kinetyką *pseudo*-pierwszego rzędu. Wraz ze wzrostem pH wartość stałej szybkości reakcji malała, przyjmując wartość $0,1014 \text{ h}^{-1}$ dla pH=2 oraz $0,0123 \text{ h}^{-1}$ dla pH=4,5. Obliczony czas połowicznej przemiany wynosił 6,84 h dla roztworu o pH 2, oraz 56,35 h dla buforu o pH 4,5, co wskazuje na spadek podatności klotrimazolu na fotodegradację pod wpływem promieniowania UVA wraz ze wzrostem wartości pH roztworu. Uzyskane wyniki obrazujące zależność stabilności substancji czynnej od wartości pH mają bardzo istotne znaczenie przy opracowywaniu formułacji leków, co w przypadku klotrimazolu zostało potwierdzone w badaniach Bachhav i współ. [78].

Zaproponowano czternaście prawdopodobnych struktur produktów degradacji (Tabela 1 przedstawiona w pracy **H-3**). Proces fotokatalitycznej degradacji przebiegał poprzez hydroksylację pierścienia fenylu oraz fragmentu imidazolowego. Hydroksylacja pierścienia imidazolu prowadziła do jego otwarcia (CP-9) i ostatecznie utraty ugrupowania imidazolu (CP-5 i CP-14). Dwa z czternastu produktów fotokatalitycznej degradacji klotrimazolu zostały wcześniej wymienione w Farmakopei Europejskiej jako zanieczyszczenia A (CP-5, (2-chlorofenyl) difenylometanol) i E (CP-13, (2-chlorofenyl) fenylometanon) [74]. Produkt degradacji CP-5 został również opisany w badaniach stabilności klotrimazolu przeprowadzonych przez Hájková i współ. oraz w badaniach degradacji klotrimazolu pod wpływem promieniowania jonizującego [75,76]. Struktury (CP-5), (CP-13) i (CP-14) zostały opisane w badaniach farmakokinetyki tego związku jako metabolity [77]. Po raz pierwszy zaproponowano jedenaście struktur produktów fotodegradacji klotrimazolu.

Testy cytotoksyczności MTT przeprowadzone na linii komórkowej ludzkich fibroblastów (BJ) ATCC™ CRL-2522 nie wykazały różnic istotnych statystycznie w żywotności komórek poddanych działaniu badanych roztworów kontrolnych (klotrimazol, klotrimazol+ TiO_2/ZnO) oraz roztworów po ekspozycji na promieniowanie UVA (klotrimazol, TiO_2/ZnO , klotrimazol+ TiO_2/ZnO) ($p < 0,05$).

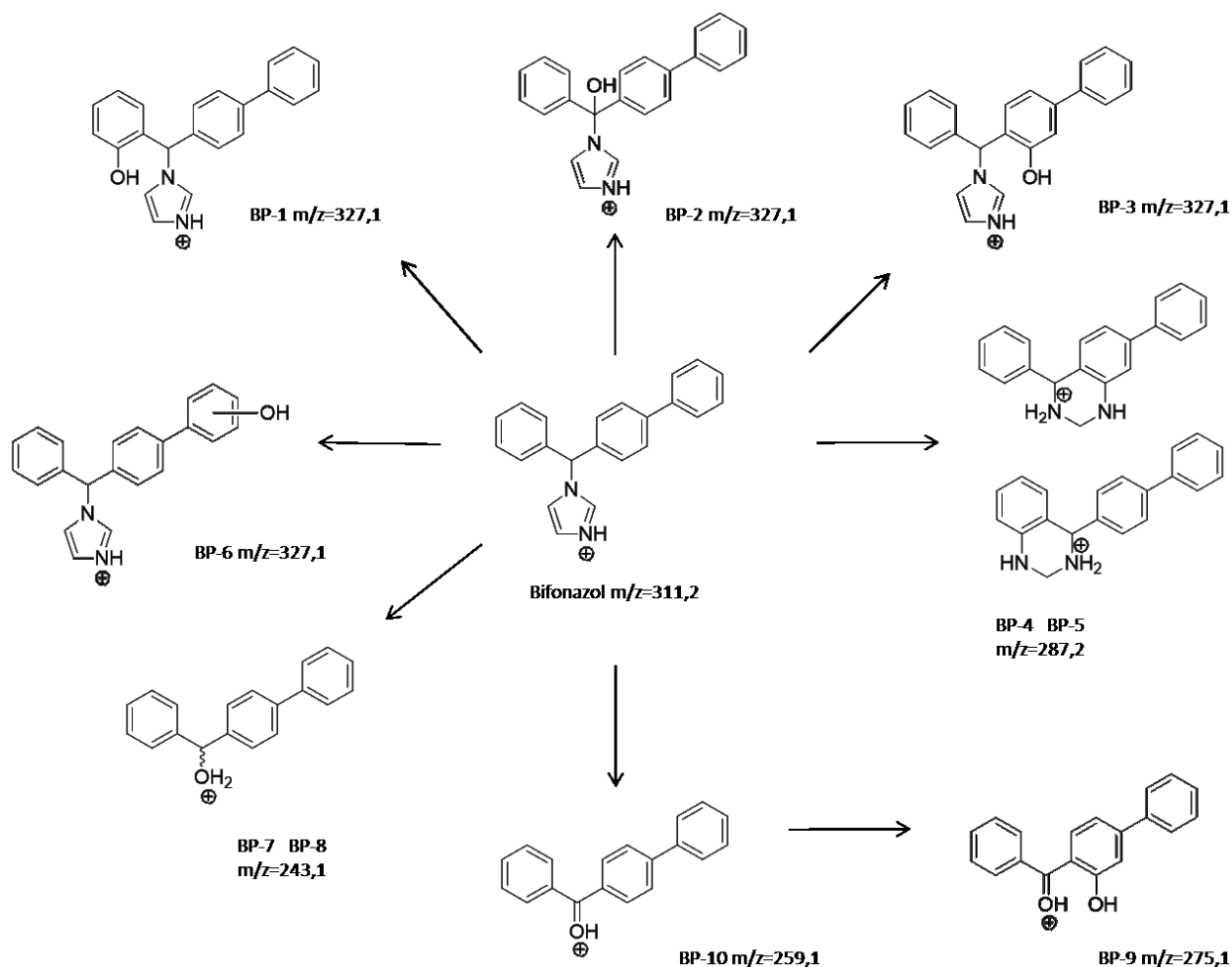
H-4. Determination of bifonazole and identification of its photocatalytic degradation products using UPLC-MS/MS. *Biomed Chromatogr.* 2017, 31(9)

Nadrzędnym celem badań zaprezentowanych w tej pracy była ocena aktywności fotochemicznej ZnO i TiO_2 w stosunku do bifonazolu w warunkach promieniowania UVA. W badaniach zastosowano dwa rodzaje tlenku cynku: I) tlenek cynku, proszek o czystości

farmakopealnej, II) tlenek cynku RonaCare[®], opracowany i stosowany jako składnik aktywny kosmetyków, oraz ditlenek tytanu, anataz, nanocząstki < 25 nm.

TiO₂ oraz ZnO to najbardziej popularne półprzewodniki stosowane w fotokatalizie heterogenicznej. Ważnymi czynnikami wpływającymi na efektywność procesu fotodegradacji w układzie heterogenicznym są: rozmiar cząstek fotokatalizatora i jego stężenie. W ramach badań procesu fotodegradacji bifonazolu uwzględniono ocenę wpływu stężenia katalizatora (TiO₂ oraz ZnO) oraz substancji badanej na wydajność tego procesu, poddając analizie stężenie bifonazolu po zakończonym naświetlaniu. Nie stwierdzono degradacji bifonazolu w próbkach kontrolnych, jak również po 24 h naświetlania promieniowaniem UVA w roztworze metanolowym w warunkach eksperymentu. Bifonazol wykazał wysoką fotostabilność, co mogło być spowodowane ekspozycją jedynie na promieniowanie w zakresie UVA, podczas gdy na zarejestrowanych widmach maksimum absorpcji bifonazolu jest poniżej 300 nm ($\lambda_{MAX}=293$ nm). Analogiczne próbki zawierające badaną substancję oraz TiO₂, ZnO, TiO₂/ZnO lub RonaCare[®] ZnO w różnych stężeniach poddano 24 h ekspozycji na promieniowanie UVA w komorze klimatycznej, temp. 25°C, wilgotność 60%, rejestrując produkty degradacji na chromatogramach. W próbkach dark control nie zaobserwowano rozkładu bifonazolu w warunkach eksperymentu. Obserwowana degradacja bifonazolu była więc spowodowana jedynie fotokatalizą, a zatem efektywność degradacji bifonazolu można przyjąć jako miarę aktywności fotokatalizatorów. Rozkład bifonazolu zaobserwowano w zawiesinach zawierających tlenek cynku oraz RonaCare[®] ZnO, natomiast badana substancja pozostawała stabilna w obecności TiO₂ (rozkład w wynosił około 0,6%). Wzrost aktywności fotokatalitycznej można uzyskać poprzez połączenie dwóch różnych fotokatalizatorów o różnych pasmach walencyjnych i pasmach przewodnictwa [79]. Zastosowanie połączenia TiO₂/ZnO w sposób zdecydowany wpłynęło na przyspieszenie rozkładu bifonazolu. Proces fotokatalitycznej degradacji bifonazolu przebiegał zgodnie z kinetyką dla reakcji *pseudo*-pierwszego rzędu, a na podstawie obliczonych parametrów kinetycznych wykazano wzrost rozkładu badanego związku wraz ze wzrastającym stężeniem fotokatalizatorów.

Badania poprzedzono opracowaniem i zwalidowaniem metody oznaczania bifonazolu w obecności produktów jego fotokatalitycznej degradacji techniką UHPLC/MS/MS. Na podstawie analizy widm masowych zaproponowano dziesięć produktów fotodegradacji bifonazolu (BP-1 – BP-10) (Rys. 4). Proces fotokatalitycznej degradacji bifonazolu przebiegał głównie na drodze hydroksylacji grupy metanotriylowej i/lub sąsiednich pierścieni fenylowych oraz rozpadu pierścienia imidazolu, a dalsze utlenianie doprowadziło do powstania odpowiednich ketonów – produkty BP-9 i BP-10. W przypadku produktów BP-4 i BP-5 doszło do rozpadu pierścienia imidazolu z późniejszą cyklizacją.



Rysunek 4. Prawdopodobne struktury produktów fotokatalitycznej degradacji bifonazolu.

H-5. Determination of itraconazole and its photodegradation products with kinetic evaluation by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr.* 2016, 30(11): 1733-1743.

Itrakonazol (1-(Butan-2-ylo)-4-[4-(4-[[[(2S,4R)-2-(2,4-dichlorofenylo)-2-[(1H-1,2,4-triazol-1-ilo) metylo]-1,3-dioksolan-4-ylo]-metoksy}fenylo)piperazyn-1-ylo]-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-on) to syntetyczny lek przeciwgrzybiczy o szerokim spektrum działania. Zajmuje ważne miejsce w terapii przeciwgrzybiczej i okazał się skuteczny w leczeniu histoplazmozy, blastomikozy, sporotrychozy, kokcydioidomikozy i niektórych postaci aspergilozy [80]. Wykazano potencjalne działanie przeciwnowotworowe itraconazolu, wskazuje na to działanie przeciwingiogenne i zdolność do hamowania szlaku sygnałowego Hedgehog [81]. Ponadto itraconazol może działać synergistycznie z szeregiem innych leków w celu wzmocnienia ich działania przeciwnowotworowego [82]. Itrakonazol jest lipofilowy ($\log K_{o/w} = 5,66$ przy pH 8,1), dlatego osiąga najwyższe stężenia w tkance tłuszczowej,

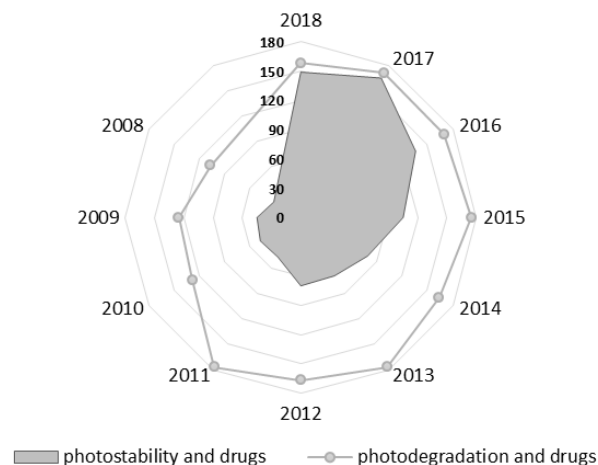
skórce i paznokciach [83,84]. Itrakonazol jest uważany za lek fotostabilny, ale może powodować nadwrażliwość na światło słoneczne [85]. Nardi i współ. zbadali właściwości fotochemiczne itrakonazolu wykazując jego niestabilność pod wpływem promieniowania UVB, degradacja na drodze dehalogenacji powodowała powstanie ugrupowania 2,4-dichlorofenyłowego, głównie w pozycji *orto* [86].

W omawianej pracy ocenie poddano wpływ promieniowania UVA na stabilność tej substancji, wykorzystując dodatkowo TiO_2 , ZnO oraz sole żelaza(III). Fotokataliza może być prowadzona w warunkach heterogenicznych na granicy faz (np. TiO_2 , ZnO) lub homogenicznych (np. rozpuszczalne sole żelaza(III)). W badaniach przeprowadzonych na sulfonamidach Adamek i współ. wykazali wysoką aktywność dla mieszaniny $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$ [87]. Roztwory itrakonazolu o początkowych stężeniach 0,1 lub 1 mg mL^{-1} zostały poddane działaniu promieniowania UVA, w celu oceny wpływu stężenia substratu na stopień jego degradacji. Itrakonazol pozostawał stabilny w próbach dark control, ale ulegał fotolizie pod wpływem promieniowania UVA. Obliczone parametry kinetyczne, stałe szybkości reakcji o wartościach 0,0813 h^{-1} i 0,0675 h^{-1} oraz czasu połowicznej przemiany $t_{0,5}$ 8,52 h i 10,27 h, odpowiednio dla stężenia roztworu 0,1 mg mL^{-1} oraz 1 mg mL^{-1} wskazują na szybszy rozkład itrakonazolu w roztworze o niższym jego stężeniu. W kolejnym etapie przebadano aktywność fotochemiczną następujących substancji: TiO_2 , FeCl_3 oraz $\text{TiO}_2/\text{FeCl}_3$. Obecność TiO_2 , FeCl_3 lub $\text{TiO}_2/\text{FeCl}_3$ zwiększała wydajność procesu fotodegradacji itrakonazolu. Wartość stałej szybkości reakcji rozkładu zależała od rodzaju katalizatora, a aktywność fotokatalityczna zmieniała się w następujący sposób: $\text{FeCl}_3 > \text{TiO}_2/\text{FeCl}_3 > \text{TiO}_2$. W obecności TiO_2 po 24 h naświetlania promieniowaniem UVA 73,32% itrakonazolu uległo rozkładowi. W próbach dark control badana substancja pozostała stabilna. Proces rozkładu itrakonazolu przebiegał najszybciej w obecności jonów Fe(III). W teście dark control dla 1 mM FeCl_3 wykazano nieznaczną degradację itrakonazolu w warunkach eksperymentu. W kolejnym etapie połączono TiO_2 oraz Fe^{3+} w następujących kombinacjach $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$: 0,25 $\text{g L}^{-1}/1,0$ mM oraz 1 $\text{g L}^{-1}/1,0$ mM. Wzrost stężenia TiO_2 przy stałym stężeniu jonów żelaza(III) powoduje obniżenie efektywności degradacji itrakonazolu w warunkach naświetlania promieniowaniem UVA.

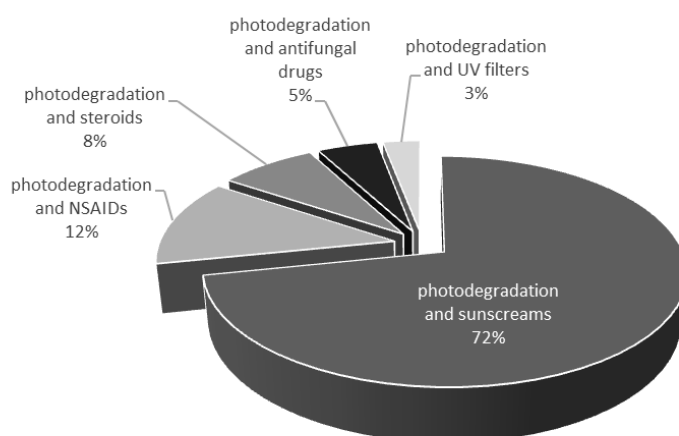
Identyfikację produktów rozpadu itrakonazolu wykonano na podstawie analizy MS/MS. Zaproponowano siedem prawdopodobnych struktur dla powstających produktów fotodegradacji itrakonazolu (IP-1 – IP-7). Główny produkt fotolizy IP-2 ($t_R = 3,20$ min) oraz główny produkt fotodegradacji w obecności Fe(III) IP-3 ($t_R = 4,79$ min) powstały prawdopodobnie na skutek rozerwania wiązania C–N. Kolejne dwa produkty były wynikiem utraty chloru w pierścieniu fenyłowym, w pozycji *orto* (IP-6) lub w pozycji *para* (IP-5). Produkt IP-7 o $m/z=669,3$ powstał poprzez utratę cząsteczki chlorowodoru z cząsteczki związku wyjściowego.

H-6. Photostability of Topical Agents Applied to the Skin: A Review. *Pharmaceutics*. 2020, 12(1).**Praca przeglądowa**

Realizacja badań fotostabilności została poprzedzona przeglądem piśmiennictwa naukowego celem usystematyzowania wiedzy o warunkach badań fotostabilności substancji czynnych leków przeznaczonych do stosowania zewnętrznego w dermatologii oraz zweryfikowania potencjalnych grup leków nieprzebadanych w tym kontekście. Konsekwencją przeprowadzonego studium danych piśmiennictwa było zakwalifikowanie substancji czynnych z grupy leków przeciwgrzybiczych i retinoidów III generacji do badań fotostabilności, jak również powstanie publikacji przeglądowej dotyczącej fotostabilności leków przeznaczonych do stosowania zewnętrznego w dermatologii. Zgodnie z moją dotychczasową wiedzą jest to jedyna praca, w której podjęto próbę usystematyzowania danych dotyczących fotostabilności leków stosowanych miejscowo na skórę. Produkty lecznicze stosowane miejscowo na skórę mogą wywoływać efekt lokalny (kremy, żele, maści, emulsje, zawiesiny, roztwory) lub ogólnoustrojowy np. systemy transdermalnego dostarczania leków. W prezentowanej pracy przeglądowej pogrupowano informacje dotyczących fotostabilności leków stosowanych na skórę w celu uzyskania efektu miejscowego. Szczegółowo omówiono najważniejsze grupy leków stosowanych miejscowo, takie jak glikokortykosteroidy, retinoidy, leki przeciwgrzybicze, niesteroidowe leki przeciwzapalne oraz wybrane filtry UV. Do publikacji włączono substancje promieniochronne, ze względu na to że Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) klasyfikuje produkty przeciwsłoneczne jako leki OTC, w Europie natomiast podlegają one regulacjom prawnym dotyczącym kosmetyków. Należy zaznaczyć, iż wykazy substancji promieniochronnych dopuszczonych do obrotu w Unii Europejskiej i w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej różnią się i są ciągle uaktualniane. Ze względu na to, że ochrona przeciwsłoneczna jest związana z fotostabilnością substancji promieniochronnych oraz, że są one stosowane w wysokich stężeniach na dużą powierzchnię ciała, badania ich fotostabilności wiążą się z ogromnym zainteresowaniem naukowców. Wstępny przegląd aktualnego piśmiennictwa w bazie PubMed na podstawie wyszukiwania: fraza fotostabilność i leki oraz fraza fotodegradacja i leki wskazuje na rosnące zainteresowanie badaniami wpływu promieniowania UV na stabilność leków (Rys. 5). Analiza danych literaturowych zawężona do poszczególnych grup leków: glikokortykosteroidy, przeciwgrzybicze, retinoidy, niesteroidowe leki przeciwzapalne oraz substancje promieniochronne wskazuje na największy udział badań nad fotostabilnością właśnie substancji promieniochronnych zwanych również filtrami UV oraz produktów w skład których wchodzi (Rys. 6).



Rysunek 5. Liczba rekordów uzyskana podczas przeglądu dostępnego piśmiennictwa dla słów kluczowych 'photostability and drugs' oraz 'photodegradation and drugs' (2008–2018, PubMed).



Rysunek 6. Procentowy udział badań fotodegradacji poszczególnych grup leków na podstawie liczby rekordów uzyskanych podczas przeglądu dostępnego piśmiennictwa (2008–2018, PubMed).

Dokonano przeglądu ponad stu czterdziestu prac powiązanych z tematem badań fotostabilności leków przeznaczonych do stosowania miejscowego przede wszystkim w schorzeniach dermatologicznych. Preparaty przeznaczone do stosowania na skórę to głównie półstałe (maści, kremy, żele) lub płynne (roztwory, emulsje, zawiesiny) postaci leku. W wytycznych ICH Q1B podano informację, iż testowanie niektórych produktów, takich jak płyny infuzyjne czy kremy może być przeprowadzone również w celu poprawy fotostabilności podczas ich użytkowania. Zakres tych badań powinien zależeć od zaleconego sposobu stosowania leku przez pacjenta, ale nie zostały przedstawione konkretne wytyczne lecz pojawia się wskazanie, iż badania mają być przeprowadzone według uznania wnioskodawcy [2]. Ponadto do badań fotostabilności półstałych produktów leczniczych muszą być stosowane inne metody ekspozycji próbki na źródło promieniowania, niż

w przypadku najczęściej badanych postaci dawkowania stałych lub płynnych. Z tego względu w pracy przedstawiono szczegółowe informacje o metodach stosowanych do przeprowadzania badań fotostabilności półstałych postaci dawkowania. W opisie uwzględniono sposób ich przygotowania do badań, stężenie substancji czynnej, rolę substancji współobecnych, procedury ekspozycji próbki na promieniowanie, jak również rodzaj źródła promieniowania oraz warunki naświetlania (rodzaj promieniowania, odległość od źródła promieniowania, czas naświetlania, dawka). Takie badania są konieczne ze względu na możliwe różnice w fotostabilności substancji czynnej zawartej w produkcie leczniczym w porównaniu do samej substancji czynnej leku. Ponadto przedstawiono strategie wykorzystywane w poprawie fotostabilności substancji czynnych w gotowych postaciach leku, spośród których największe znaczenie mają m.in.: rodzaj formułacji, użyte substancje absorbujące promieniowanie UV, pigmenty, przeciwutleniacze, kompleksy inkluzyjne z cyklodekstrynami, inkorporacja leku w nośniki (liposomy, etosomy, niosomy, mikroemulsje), zastosowanie nanotechnologii oraz kombinacja różnych technik (Tabela 3 przedstawiona w pracy **H-6**). Badania fotostabilności wymagają również uwzględnienia aspektu cytotoksyczności i fototoksyczności powstających produktów degradacji, co jest związane z bezpieczeństwem i skutecznością farmakoterapii. W pracy nawiązano zatem do problematyki fotodermatoz egzogennych wywoływanych przez leki. Ekspozycja na światło słoneczne może wywołać reakcje nadwrażliwości, które są klasyfikowane jako reakcje fototoksyczne lub reakcje fotoalergiczne. Nadwrażliwość na światło jest wynikiem skojarzonego działania dwóch czynników: światła (promieniowanie ultrafioletowe lub widzialne) i leku (podanie ogólnoustrojowe lub miejscowe). Wywoływana jest ona głównie przez promieniowanie UVA, które wnika w głębsze warstwy skóry [88]. Za reakcje nadwrażliwości na światło odpowiada wiele leków stosowanych w dermatologii m.in. niektóre antybiotyki, retinoidy, leki przeciwgrzybicze, substancje promieniochronne. Fototoksyczność to ostra reakcja zapalna spowodowana uszkodzeniem zainicjowanym przez reaktywne form tlenu, które powodują oksydacyjne uszkodzenie DNA, lipidów i białek. Ze względu na obecność chromoforów w strukturze leku, jego cząsteczki absorbują promieniowanie UV, które może powodować zmiany w strukturze lub generować wolne rodniki. Substancja aktywna leku po jego aplikacji na skórę może więc być wystawiona na działanie promieniowania UV. Reakcje fotoalergiczne są rzadkie, niezależne od dawki i pojawiają się po pewnym czasie od ekspozycji na promieniowanie, najczęściej po upływie 24–48 godzin od ekspozycji na hapten i promieniowanie UV. Lek lub produkty jego degradacji działają jak hapteny, wywołując odpowiedź immunologiczną. Niezwykle istotna jest więc ocena fototoksyczności substancji czynnej oraz jej potencjalnych produktów degradacji. Ocenę potencjału fototoksycznego przeprowadza się zgodnie z zaakceptowanym przez Unię Europejską protokołem badania fototoksyczności na fibroblastach mysich – zwalidowany test wychwyty czerwieni obojętnej (*ang.* 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay) opierającym się na porównaniu cytotoksyczności substancji czynnej leku poddanej naświetlaniu promieniowaniem UVA/VIS oraz bez jego działania. Niniejsza praca miała na celu podkreślenie, że leki przeznaczone do stosowania miejscowego na skórę, w przeciwieństwie do innych postaci dawkowania, mogą ulegać fotodegradacji również po ich

zastosowaniu. Dlatego bardzo ważne jest określenie ich wrażliwości na promieniowanie UV w warunkach ich stosowania przez pacjenta.

4.3.4. Podsumowanie

Najważniejsze efekty badań przeprowadzonych w ramach realizacji osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego:

- opracowane i zwalidowane zgodnie z wymaganiami Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi, nowe metody analityczne umożliwiły oznaczenie badanych substancji: tazarotenu, terbinafiny, klotrimazolu, bifonazolu i itrakonazolu techniką UHPLC/MS/MS w obecności produktów ich degradacji, a zastosowanie techniki o bardzo wysokiej czułości umożliwiło wykrycie zanieczyszczeń występujących również w niskich stężeniach
- bazując na wynikach analizy UHPLC/MS/MS zaproponowano struktury nowych produktów rozkładu badanych substancji z grupy leków przeciwgrzybiczych i retinoidów oraz możliwe kierunki ich fotodegradacji
- wyznaczono wartości parametrów kinetycznych reakcji fotodegradacji badanych substancji oraz wykazano wpływ następujących czynników na ich fotostabilność: stężenie i rodzaj zastosowanego fotokatalizatora, pH, rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika, postać farmaceutyczna, substancje współobecne, takie jak jony metali, TiO₂, ZnO oraz substancje promieniochronne (benzofenon-1, benzofenon-2, benzofenon-3 (oksybenzon), benzofenon-4 (sulisobenzon), butylometoksydibenzoilometan, 3-(4-metylobenzylideno)kamfora, oktokrylen)
- substancje absorbujące promieniowanie UV mogą zwiększać fotostabilność substancji czynnych leków, co wykazano dla terbinafiny i benzofenonu-1, benzofenonu-2 oraz 3-(4-metylobenzylideno)kamfory w warunkach eksperymentu
- substancje promieniochronne mogą przyspieszać przebieg procesu fotodegradacji substancji czynnej leku, co zaobserwowano dla tazarotenu w obecności benzofenonu-4 w warunkach eksperymentu
- oceniając cytotoksyczność roztworu tazarotenu po fotokatalitycznej degradacji przy użyciu testu MTT w stosunku do komórek nowotworowych: estrogeniezależnego raka piersi (MDA-MB-231), raka szyjki macicy (HeLa) oraz raka jajnika (A2780) wykazano, że roztwór zawierający produkty fotodegradacji tazarotenu posiada silniejsze właściwości antyproliferacyjne od leku wyjściowego w stosunku do linii komórkowych A2780 i MDA-MB-231, co dowodzi znaczenia badań, w których analizie poddaje się cytotoksyczność produktów degradacji leków
- w testach cytotoksyczności MTT przeprowadzonych na linii komórkowej ludzkich fibroblastów (BJ) ATCC TM CRL-2522 dla terbinafiny i klotrimazolu nie wykazano różnic istotnych statystycznie w żywotności komórek poddanych działaniu badanych roztworów kontrolnych oraz roztworów po ekspozycji na promieniowanie UVA, co wskazuje na brak cytotoksyczności wobec analizowanej linii komórkowej.

Przeprowadzono kompleksową ocenę fotostabilności substancji z grupy leków przeciwgrzybiczych wykazując ich zróżnicowaną podatność na fotodegradację. Dzięki uzyskanym результатам badań poszerzono również dotychczasową wiedzę na temat wpływu promieniowania UVA i UVB na fotostabilność retinoidów III generacji przy uwzględnieniu wpływu obecności substancji promieniochronnych. Wyniki zrealizowanych badań mają charakter nowatorski i zostały opublikowane na łamach wiodących czasopism w dziedzinie chemii analitycznej i nauk farmaceutycznych.

Ważnym kierunkiem moich badań nie ujętym w ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego, a będącym dopełnieniem przeprowadzonej oceny fotokatalitycznej degradacji leków przeciwgrzybiczych była analiza ich biodegradacji. Leki przedostające się do środowiska naturalnego, jak i ich metabolity, mogą stanowić poważne zagrożenie dla ekosystemów, dlatego badania z zakresu mechanizmów i efektywności procesu ich remediacji są potrzebne [89-92]. W tym aspekcie na szczególną uwagę zasługują leki przeciwgrzybicze, ze względu na swoją trwałość i potencjalnie negatywne oddziaływanie na różne ekosystemy. Problem zanieczyszczenia środowiska lekami jest powszechny, a jednym ze stosowanych rozwiązań są układy fotokatalityczne oparte na TiO_2 . Jednak słaba rozpuszczalność leków przeciwgrzybiczych w wodzie warunkuje konieczność poszukiwania alternatywnych metod ich remediacji. Jedną z metod bioremediacji jest mykoremediacja, która opiera się na wykorzystaniu grzybów do usuwania zanieczyszczeń ze środowiska. W ramach przeprowadzonych badań dokonano oceny procesu bioremediacji powszechnie stosowanych leków przeciwgrzybiczych, takich jak klotrimazol, bifonazol oraz terbinafina z zastosowaniem kultur *in vitro* *Lentinula edodes*, a następnie zidentyfikowano prawdopodobne produkty ich biodegradacji oraz porównano wpływ postaci leku na efektywność tego procesu (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-2; O-8**).

4.3.5. Piśmiennictwo

- [1] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Guideline: ICH Q1A (R2) Stability testing of new drug substances and products, 2003. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf>
- [2] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Guideline: ICH Q1B Stability Testing; Photostability Testing of New Drug Substances and Products, 1996. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q1B%20Guideline.pdf>
- [3] Jamrógiewicz M, Pieńkowska K. Recent breakthroughs in the stability testing of pharmaceutical compounds. Trends Anal. Chem. 2019;111:118–127. doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.007
- [4] Baertschi SW, Clapham D, Foti C, Jansen PJ, Kristensen S, Reed RA, Templeton AC, Tønnesen HH. Implications of in-use photostability: proposed guidance for photostability testing and labeling to support the administration of photosensitive pharmaceutical products, part 1: drug products administered by injection. J Pharm Sci. 2013;102(11):3888-99. doi: 10.1002/jps.23717.
- [5] Baertschi SW, Clapham D, Foti C, Kleinman MH, Kristensen S, Reed RA, Templeton AC, Tønnesen HH. Implications of In-Use Photostability: Proposed Guidance for Photostability Testing and Labeling to Support the Administration of Photosensitive Pharmaceutical Products, Part 2: Topical Drug Product. J Pharm Sci. 2015;104(9):2688-701. doi: 10.1002/jps.24396.
- [6] Allain L, Baertschi SW, Clapham D, Foti C, Lantaff WM, Reed RA, Templeton AC, Tønnesen HH. Implications of In-Use Photostability: Proposed Guidance for Photostability Testing and Labeling to

- Support the Administration of Photosensitive Pharmaceutical Products, Part 3. Oral Drug Products. *J Pharm Sci.* 2016;105(5):1586-1594. doi: 10.1016/j.xphs.2016.02.035.
- [7] Alsante KM, Huynh-Ba KC, Baertschi SW, Reed RA, Landis MS, Furness S, Olsen B, Mowery M, Russo K, Iser R, Stephenson GA, Jansen P. Recent trends in product development and regulatory issues on impurities in active pharmaceutical ingredient (API) and drug products. Part 2: Safety considerations of impurities in pharmaceutical products and surveying the impurity landscape. *AAPS PharmSciTech* 2014;5(1):237-51. doi: 10.1208/s12249-013-0061-z.
- [8] Jamrógiewicz M. Consequences of New Approach to Chemical Stability Tests to Active Pharmaceutical Ingredients. *Front. Pharmacol.* 2016;7:17. doi: 10.3389/fphar.2016.00017.
- [9] Singh S, Junwal M, Modhe G, Tiwari H, Kurmi M, Parashar N, Sidduri P. Forced degradation studies to assess the stability of drugs and products. *TrACTrends Anal. Chem.* 2013;49:71–88. doi.org/10.1016/j.trac.2013.05.006.
- [10] Sengupta P, Chatterjee B, Tekade RK. Current regulatory requirements and practical approaches for stability analysis of pharmaceutical products: A comprehensive review. *Int J Pharm.* 2018;543(1-2):328-344. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.04.007.
- [11] Note for guidance on In-use stability testing of human medicinal products. EMA, Londyn, 2001. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/note-guidance-use-stability-testing-human-medicinal-products_en.pdf
- [12] Spielmann H, Balls M, Brand M, Döring B, Holzhütter HG, Kalweit S, Klecak G, Eplattenier HL, Liebsch M, Lovell WW, Maurer T, Moldenhauer F, Moore L, Pape WJ, Pfanenbecker U, Potthast J, De Silva O, Steiling W, Willshaw A. EEC/COLIPA project on in vitro phototoxicity testing: First results obtained with a Balb/c 3T3 cell phototoxicity assay. *Toxicol In Vitro.* 1994;8(4):793-796. doi: 10.1016/0887-2333(94)90069-8.
- [13] Food and Drug Administration, HHS. International Conference on Harmonisation; S10 Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals; guidance for industry, 2015. <https://www.fda.gov/media/85076/download>
- [14] Albini A, Fasani E. Photostability of Drugs and Drug Formulations; Tonnesen HH, Ed.; CRC Press: Boca Raton, USA, 2004; Chapter 4; 68–101.
- [15] Ricci A, Fasani E, Mella M, Albini A. General patterns in the photochemistry of pregna-1,4-dien-3,20-diones. *J Org Chem.* 2003;68(11):4361-6. doi: 10.1021/jo034070a.
- [16] Miolo G, Gallocchio F, Levorato L, Dalzoppo D, Beyersbergen van Henegouwen GM, Caffieri S. UVB photolysis of betamethasone and its esters: Characterization of photoproducts in solution, in pig skin and in drug formulations. *J. Photochem. Photobiol. B* 2009;96(1):75-81. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2009.04.007.
- [17] Khattak SU, Shaikh D, Ahmad I, Usmanghani K, Sheraz MA, Ahmed S. Photodegradation and stabilization of betamethasone-17 valerate in aqueous/organic solvents and topical formulations. *AAPS PharmSciTech.* 2013;14(1):177-182. doi:10.1208/s12249-012-9902-4.
- [18] Caffieri S, Dall'Acqua S, Castagliuolo I, Brun P, Miolo G. UVB photolysis of hydrocortisone 21-acetate. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;47(4-5):771-7. doi: 10.1016/j.jpba.2008.03.008.
- [19] Rosa P, Snovarski Salla AP, de Bona da Silva C, Bueno Rolim CM, Horn Adams AI. Investigation of the stabilizing effects of antioxidants and benzophenone-3 on desonide photostability. *AAPS PharmSciTech.* 2014;15(5):1155-1162. doi:10.1208/s12249-014-0149-0.
- [20] Dalla Santa, F.; Sperotto, L.E.; Braga, M.P.; Dalcin, T.C.S.; Codevilla, C.S.; Meneghini, L.Z.; Donato, E.M.; Bueno Rolim, C.M.; Bergold, A.M.; Horn Adams, A.I. Development and validation of a simple stability-indicating LC-method and UVA photostability study of desonide hair lotion. *Curr. Anal. Chem.* 2013;9(4):659–667. doi:10.2174/15734110113099990011.
- [21] Teng XW, Cutler DC, Davies NM. Degradation kinetics of mometasone furoate in aqueous systems. *Int J Pharm.* 2003;259(1-2):129-41. doi:10.1016/s0378-5173(03)00226-6.
- [22] Miolo G, Caffieri S, Dalzoppo D, Ricci A, Fasani E, Albini A. Photochemistry and phototoxicity of fluocinolone 16,17-acetonide. *Photochem Photobiol.* 2005;81(2):291-8. doi:10.1562/2004-05-25-RA-178.
- [23] Miolo G, Ricci A, Caffieri S, Levorato L, Fasani E, Albini A. In vitro phototoxic properties of triamcinolone 16,17-acetonide and its main photoproducts. *Photochem Photobiol.* 2003;78(5):425-30. doi: 10.1562/0031-8655(2003)078<0425:ivppot>2.0.co;2.
- [24] Khattak SU, Ahmad I, Usmanghani K, Qazi MS. In vitro evaluation of betamethasone esters for phototoxic potential. *Drug Chem Toxicol.* 2012;35(1):43-7. doi: 10.3109/01480545.2011.588441.

- [25] Lewis RE. Current concepts in antifungal pharmacology. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(8):805-817. doi:10.4065/mcp.2011.0247.
- [26] Zuckerman JM, Tunkel AR. Itraconazole: a new triazole antifungal agent. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1994;15(6):397-410. doi: 10.1086/646938.
- [27] Kim H, Jung S, Yeo S, Kim D, Na YC, Yun G, Lee J. Characteristics of Skin Deposition of Itraconazole Solubilized in Cream Formulation. *Pharmaceutics.* 2019;11(4):195. doi: 10.3390/pharmaceutics11040195.
- [28] Kumar N, Shishu. D-optimal experimental approach for designing topical microemulsion of itraconazole: Characterization and evaluation of antifungal efficacy against a standardized Tinea pedis infection model in Wistar rats. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2015;67:97–112. doi: 10.1016/j.ejps.2014.10.014.
- [29] Carter EL, Chren M, Bickers DR. *Drugs Used in Dermatological Disorders.* 2003;484–498.
- [30] Brisaert MG, Everaerts I, Plaizier-Vercammen JA. Chemical stability of tretinoin in dermatological preparations. *Pharm Acta Helv.* 1995;70:161–166. doi.org/10.1016/0031-6865(95)00016-3.
- [31] Brisaert MG, Plaizier-Vercammen JA. Investigation on the photostability of a tretinoin lotion and stabilization with additives. *Int J Pharm.* 2000;199(1):49-57. doi: 10.1016/s0378-5173(00)00366-5.
- [32] Tashtoush BM, Jacobson EL, Jacobson MK. UVA is the major contributor to the photodegradation of tretinoin and isotretinoin: Implications for development of improved pharmaceutical formulations. *Int J Pharm.* 2008;352(1-2):123-128. doi:10.1016/j.ijpharm.2007.10.045.
- [33] Rosso JD, Harper J, Pillai R, Moore R. Tretinoin photostability comparison of micronized tretinoin gel 0.05% and tretinoin gel 0.025% following exposure to fluorescent and Solar Light. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2013;6(2):25–28.
- [34] Manconi M, Valenti D, Sinico C, Lai F, Loy G, Fadda AM. Niosomes as carriers for tretinoin. II. Influence of vesicular incorporation on tretinoin photostability. *Int J Pharm.* 2003;260(2):261-72. doi: 10.1016/s0378-5173(03)00268-0.
- [35] Ioele G, Cione E, Risoli A, Genchi G, Ragno G. Accelerated photostability study of tretinoin and isotretinoin in liposome formulations. *Int J Pharm.* 2005;293(1-2):251-60. doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.01.012.
- [36] Tolleson WH, Cherng SH, Xia Q, Boudreau M, Yin JJ, Wamer WG, Howard PC, Yu H, Fu PP. Photodecomposition and phototoxicity of natural retinoids. *Int J Environ Res Public Health.* 2005;2(1):147-55. doi: 10.3390/ijerph2005010147.
- [37] Hecker D, Worsley J, Yueh G, Kuroda K, Lebwohl M. Interactions between tazarotene and ultraviolet light. *J Am Acad Dermatol.* 1999;41(6):927-30. doi.org/10.1016/S0190-9622(99)70248-3.
- [38] Martin B, Meunier C, Montels D, Watts O. Chemical stability of adapalene and tretinoin when combined with benzoyl peroxide in presence and in absence of visible light and ultraviolet radiation. *Br J Dermatol.* 1998;139 Suppl 52:8-11. doi: 10.1046/j.1365-2133.1998.1390s2008.x.
- [39] Rusu A, Tanase C, Pascu GA, Todoran N. Recent Advances Regarding the Therapeutic Potential of Adapalene. *Pharmaceutics (Basel).* 2020;13(9):217. doi: 10.3390/ph13090217.
- [40] Czernielewski J, Michel S, Bouclier M, Baker M, Hensby JC. Adapalene biochemistry and the evolution of a new topical retinoid for treatment of acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2001;15 Suppl 3:5-12. doi: 10.1046/j.0926-9959.2001.00006.x.
- [41] Regulation (EC) No 1223/2009 Of The European Parliament And Of The Council of 30 November 2009 on cosmetic products, ANNEX VI. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2009/1223/oj>.
- [42] Food and Drugs; Chapter - Food And Drug Administration, Department Of Health And Human Services, Subchapter D - Drugs For Human Use, Part 352: Sunscreen Drug Products For Over The Counter Human Use. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=352&showFR=1>
- [43] Schneider SL, Lim HW. A review of inorganic UV filters zinc oxide and titanium dioxide. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2019;35(6):442-446. doi: 10.1111/phpp.12439.
- [44] Manaia EB, Kaminski RCK., Corrêa MA., Chiavacci L.A. Inorganic UV filters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2013;49(2):201-209. doi.org/10.1590/S1984-82502013000200002
- [45] Scientific Committee on Consumer Safety; SCCS/1516/13; Opinion on 23 Titanium Dioxide (nano form) 24 COLIPA n° S75, 2013. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_136.pdf
- [46] Braslavsky SE, Braun AM, Cassano AE, Emeline AV, Litter MI, Palmisano L, Parmon VN, Serpone N. Glossary of terms used in photocatalysis and radiation catalysis (IUPAC Recommendations 2011). *Pure Appl. Chem.* 2011;83(4):931-1014. doi.org/10.1351/PAC-REC-09-09-36

- [47] Smijs TG, Pavel S. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnol Sci Appl*. 2011;4:95-112. doi: 10.2147/NSA.S19419.
- [48] Picatonotto T, Vione D, Carlotti ME, Gallarate M. Photocatalytic Activity of Inorganic Sunscreens. *J. Dispers. Sci. Technol*. 2001;22:381-386. doi: 10.1081/DIS-120015981.
- [49] Li M, Yin JJ, Wamer WG, Lo YM. Mechanistic characterization of titanium dioxide nanoparticle-induced toxicity using electron spin resonance. *J Food Drug Anal*. 2014;22(1):76-85. doi: 10.1016/j.jfda.2014.01.006.
- [50] Gaspar LR, Maia Campos PM. Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen. *Int J Pharm*. 2006;307(2):123-8. doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.08.029.
- [51] Ahmad I, Ahmed S, Anwar Z, Sheraz MA, Sikorski M. Photostability and photostabilization of drugs and drug products. *Int. J. Photoenergy*. 2016;16. doi:10.1155/2016/8135608.
- [52] Coelho L, Almeida IF, Sousa Lobo JM, Sousa E Silva JP. Photostabilization strategies of photosensitive drugs. *Int J Pharm*. 2018;541(1-2):19-25. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.02.012.
- [53] Thoma K. Photostabilization of solid and semisolid dosage forms. Piechocki JT, Thoma K. Eds. *Pharmaceutical Photostability and Stabilization Technology*, Informa Healthcare, New York, USA, 2007; 336–341.
- [54] Hubicka U, Krzek J. Effect of selected metal ions on the photodegradation of ciprofloxacin in the solid phase. *J AOAC Int*. 2008;91(6):1331-8.
- [55] Hubicka U, Zuromska-Witek B, Krzek J, Walczak M, Zylewski M. Kinetic and thermodynamic studies of moxifloxacin hydrolysis in the presence and absence of metal ions in acidic solutions. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2013;70(1):59-70.
- [56] Hubicka U, Krzek J, Walczak M. Stability of ciprofloxacin and norfloxacin in the presence and absence of metal ions in acidic solution. *Pharm Dev Technol*. 2010;15(5):532-544. doi: 10.3109/10837450903338379.
- [57] Baran W, Adamek E, Sobczak A, Makowski A. Photocatalytic degradation of sulfa drugs with TiO₂, Fe salts and TiO₂/FeCl₃ in aquatic environment-Kinetics and degradation pathway. *Appl. Catal. B*. 2009;90(3-4):516-525. doi.org/10.1016/j.apcatb.2009.04.014.
- [58] Baran W, Adamek E, Sobczak A, Sochacka J. The comparison of photocatalytic activity of Fe-salts, TiO₂ and TiO₂/FeCl₃ during the sulfanilamide degradation process. *Catal. Commun*. 2009;10(6):811-814. doi.org/10.1016/j.catcom.2008.12.026.
- [59] Baran W, Adamek E, Sobczak A. Effect of FeCl₃ on the photocatalytic processes initiated by UVA and VIS light in the presence of TiO₂-P25. *Appl. Catal. B*. 2015:172-173:136-144. doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.02.025.
- [60] Kolli SS, Pecone D, Pona A, Cline A, Feldman SR. Topical Retinoids in Acne Vulgaris: A Systematic Review. *Am J Clin Dermatol*. 2019;20(3):345-365. doi: 10.1007/s40257-019-00423-z.
- [61] Jones PH, Burnett RD, Fainaru I, Nadolny P, Walker P, Yu Z, Tang-Liu D, Ganesan TS, Talbot DC, Harris AL, Rustin GJ. A phase 1 study of tazarotene in adults with advanced cancer. *Br J Cancer*. 2003;89(5):808-815. doi:10.1038/sj.bjc.6601169.
- [62] Scott LJ. Trifarotene: First Approval. *Drugs*. 2019;79(17):1905-1909. doi: 10.1007/s40265-019-01218-6.
- [63] Roy C, Chakrabarty J. Development and Validation of a Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Determination of Phenoxyethanol, Methylparaben, Propylparaben, Mometasone Furoate, and Tazarotene in Topical Pharmaceutical Dosage Formulation. *Sci Pharm*. 2013;81(4):951-67. doi: 10.3797/scipharm.1303-22.
- [64] Singh DK, Sahu A, Balhara A, Giri S, Singh S. Insights into the degradation chemistry of tazarotene, a third generation acetylenic retinoid: LC-HRMS (Orbitrap), LC-MSn and NMR characterization of its degradation products, and prediction of their physicochemical and ADMET properties. *J. Pharm. Biomed*. 2020;186:113316. doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113316.
- [65] Osiris Property Explorer. <https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>
- [66] Newland JG, Abdel-Rahman SM. Update on terbinafine with a focus on dermatophytoses. *Clin Cosmet Invest Dermatol*. 2009;2:49-63. doi:10.2147/ccid.s3690.
- [67] Kikuchi I, Tanuma H, Morimoto K, Kawana S. Usefulness and pharmacokinetic study of oral terbinafine for hyperkeratotic type tinea pedis. *Mycoses*. 2008;51(1):7-13. doi: 10.1111/j.1439-0507.2007.01438.x.
- [68] Kalińska-Bienias A, Kowalewski C, Woźniak K. Terbinafine-induced subacute cutaneous lupus erythematosus in two patients with systemic lupus erythematosus successfully treated with topical corticosteroids. *Postepy Dermatol Alergol*. 2013;30(4):261-264. doi:10.5114/pdia.2013.37038

- [69] Kuo S, Sivamani RK. UVB-sensitive solar urticaria possibly associated with terbinafine. *Dermatol Online J*. 2014;20(3):doi_21753.
- [70] Kadavakollu S, Stailey C, Kunapareddy CS, White S. Clotrimazole as a Cancer Drug: A Short Review. *Med Chem (Los Angeles)*. 2014;4(11):722-724. doi:10.4172/2161-0444.1000219
- [71] Dallet M. Background document on clotrimazole, OSPAR Commission, 2013, London, United Kingdom
- [72] Peng X, Huang Q, Zhang K, Yu Y, Wang Z, Wang C. Distribution, behavior and fate of azole antifungals during mechanical, biological, and chemical treatments in sewage treatment plants in China. *Sci Total Environ*. 2012;426:311-7. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.03.067.
- [73] Peschka M, Roberts PH, Knepper TP. Analysis, fate studies and monitoring of the antifungal agent clotrimazole in the aquatic environment. *Anal Bioanal Chem*. 2007;389(3):959-68. doi: 10.1007/s00216-007-1480-z.
- [74] *European Pharmacopeia*, 5th edition, Council of Europe, Strasbourg, 2004.
- [75] Hájková R, Sklenářová H, Matysová L, Svecová P, Solich P. Development and validation of HPLC method for determination of clotrimazole and its two degradation products in spray formulation, *Talanta*. 2007;73:483-9. doi.org/10.1016/j.talanta.2007.04.023.
- [76] Marciniak B, Dettlaff K, Naskrent M. Influence of ionising irradiation on clotrimazole in the solid state. *J Pharm Biomed Anal*. 2009;50(4):675-8. doi: 10.1016/j.jpba.2008.08.032.
- [77] Florey K. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, Volume 11, New York, 1982.
- [78] Bachhav YG, Patravale VB. Microemulsion-based vaginal gel of clotrimazole: formulation, in vitro evaluation, and stability studies. *AAPS PharmSciTech*. 2009;10(2):476-81. doi: 10.1208/s12249-009-9233-2.
- [79] Siwińska-Stefańska K, Kubiaka A, Piasecki A, et al. TiO₂-ZnO Binary Oxide Systems: Comprehensive Characterization and Tests of Photocatalytic Activity. *Materials (Basel)*. 2018;11(5):841. doi:10.3390/ma11050841.
- [80] Walsh TJ, Dixon DM. *Medical Microbiology, Antifungal Agents*. University of Texas Medical Branch: Galveston, 1996; 785-790. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8263/>.
- [81] Pantziarka P, Sukhatme V, Bouche G, Meheus L, Sukhatme VP. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)-itraconazole as an anti-cancer agent. *Ecancermedicallscience*. 2015;9:521. doi:10.3332/ecancer.2015.521.
- [82] Nacev BA, Liu JO. Synergistic inhibition of endothelial cell proliferation, tube formation, and sprouting by cyclosporin A and itraconazole. *PLoS One*. 2011;6(9):e24793. doi: 10.1371/journal.pone.0024793.
- [83] Sriamornsak P, Limmatvapirat S, Cheewatanakornkool K. Dissolution improvement of itraconazole by a nanoparticulate system containing lecithin-pectin complexes. *Adv Mat Res*. 2013;747:162-165.
- [84] Ramos-e-Silva M, Marques SA, Gontijo B, Zaitz C, Campbell I, Veloso ST. Efficacy and safety of itraconazole pulse therapy: Brazilian multicentric study on toenail onychomycosis caused by dermatophytes. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1998;11(2):109-16.
- [85] Alvarez-Fernández JG, Castaño-Suárez E, Cornejo-Navarro P, de la Fuente EG, Ortiz de Frutos FJ, Iglesias-Diez L. Photosensitivity induced by oral itraconazole. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2000;14(6):501-3. doi: 10.1046/j.1468-3083.2000.00164.x.
- [86] Andreu I, Mayorga C, Miranda MA. Generation of reactive intermediates in photoallergic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010;10(4):303-8. doi: 10.1097/ACI.0b013e32833bc68c.
- [87] Adamek E, Baran W, Ziemiańska J, Sobczak A. Effect of FeCl₃ on sulfonamide removal and reduction of antimicrobial activity of wastewater in a photocatalytic process with TiO₂. *Appl. Catal. B* 2012;126:29-38. doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.06.027.
- [88] Lee YS, Yi JS, Lim HR, Kim TS, Ahn IY, Ko K, Kim J, Park HK, Sohn SJ, Lee JK. Phototoxicity Evaluation of Pharmaceutical Substances with a Reactive Oxygen Species Assay Using Ultraviolet A. *Toxicol Res*. 2017;33(1):43-48. doi:10.5487/TR.2017.33.1.043.
- [89] Zuccato E, Calamari D, Natangelo M, Fanelli R. Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet*. 2000;355(9217):1789-90. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02270-4.
- [90] Boxall AB. The environmental side effects of medication. *EMBO Rep*. 2004;5(12):1110-1116. doi:10.1038/sj.embor.7400307
- [91] Halm-Lemeille MP, Gomez E. Pharmaceuticals in the environment. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016;23(6):4961-3. doi: 10.1007/s11356-016-6248-6.
- [92] Kulshreshtha S, Mathur N, Bhatnagar P. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express*. 2014;4:29. doi:10.1186/s13568-014-0029-8

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Moja działalność naukowo-badawcza jest związana z badaniami nad rozwojem leków, takimi jak ocena profilu farmakokinetycznego, badania *ex vivo* (model izolowanej perfundowanej wątroby szczura) oraz badania *in vitro* (wiązaną substancji do białek osocza: albuminy wołowej oraz kwaśnej α_1 -glikoproteiny techniką dializy równowagowej, stabilność mikrosomalna, stabilność wobec frakcji S9), jak również opracowywaniem i walidacją metod analitycznych, oceną stabilności substancji czynnej oraz gotowej postaci farmaceutycznej z istotnym naciskiem na fotostabilność. Interdyscyplinarny charakter moich zainteresowań naukowych wynika ze specyfiki badań prowadzonych przeze mnie w trakcie studiów doktoranckich w Zakładzie Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie pod kierownictwem Prof. dr hab. Joanny Szymury-Oleksiak oraz w obecnym miejscu zatrudnienia w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie pod kierownictwem Prof. dr hab. Włodzimierza Opoki.

5.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych

Studia na kierunku farmacja na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie ukończyłam w roku 2007. Pracę magisterską pt. „Różne oblicza biologicznej roli glutationu” wykonałam w Katedrze Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie pod opieką naukową Prof. dr. hab. Lidii Włodek. W 2007 roku została opublikowana praca pod tym samym tytułem, jak również artykuł przeglądowy pt. „Transferazy glutationowe — bioaktywacja S-koniugatów glutationu z udziałem β -liazy” (**Załącznik 4 II/4/C: publikacja P-3, P-4**).

Po otrzymaniu dyplomu i tytułu magistra farmacji w roku 2007 podjęłam pracę w aptecce ogólnodostępnej, którą w latach 2008-2014 kontynuowałam w niepełnym wymiarze czasu pracy. W roku 2008 rozpoczęłam studia doktoranckie w Zakładzie Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Pracę doktorską wykonywałam pod kierunkiem Prof. dr hab. Joanny Szymury-Oleksiak. Badania prowadzone w ramach mojej pracy doktorskiej dotyczyły farmakokinetyki nowego piperidynowego antagonisty receptora H_3 histaminowego o roboczej nazwie DL76. Związek został zsyntetyzowany przez dr hab. Dorotę Łażewską w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum pod kierownictwem Prof. dr hab. Katarzyny Kieć-Kononowicz. Podczas studiów doktoranckich zdobyłam doświadczenie w pracy laboratoryjnej oraz w prowadzeniu badań z udziałem zwierząt laboratoryjnych. Moje prace eksperymentalne wymagały ode mnie zapoznania się z badaniami *in vivo* – ocena profilu farmakokinetycznego badanego związku w surowicy krwi szczura po jednorazowym podaniu dożylnym, badaniami *ex vivo* – ocena metabolizmu wątrobowego

badanego związku w medium perfundującym Krebs-Henseleit Buffer bez dodatku białka oraz zawierającym albuminę wołową z zastosowaniem modelu izolowanej perfundowanej wątroby szczura (aparatus do perfuzji HSE-HA Perfusion System PS-1, Hugo Sachs Electronik Harvard Apparatus), badania *in vitro* – ocena metabolizmu badanego związku z zastosowaniem mikrosomów wątrobowych, ocena procesu wiązania badanego związku z białkami krwi (albuminą oraz kwaśną α_1 -glikoproteiną) techniką dializy równowagowej (Fast Micro-Equilibrium Dialysis, Harvard Apparatus). Prezentacja uzyskanych wyników związana była z obliczeniem frakcji wolnej i związanej leku, wyznaczeniem parametrów wiązania badanego związku z białkami, oceną kinetyki reakcji enzymatycznych, wyznaczaniem parametrów farmakokinetycznych, takich jak klirens całkowity i wątrobowy oraz obliczeniami statystycznymi. Oznaczenia ilościowe badanego związku wykonałam z zastosowaniem techniki HPLC/MS/MS. W ramach prowadzonych badań zapoznałam się również z techniką spektrofotometrii UV-VIS, techniką pozyskiwania i otrzymywania izolowanej frakcji mikrosomalnej i cytozolowej wątroby szczura (wirowanie różnicowe) oraz obsługą programów Statistica, Mathematica, WinNonlin oraz GraphPad Prism. W latach akademickich 2008/09 oraz 2011/12 otrzymywałam stypendium dla najlepszych doktorantów Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Badanie kinetyki procesu eliminacji wątrobowej DL76 nowego piperidynowego antagonisty receptora H_3 histaminowego u szczurów” w 2014 roku uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie został mi nadany dyplom i stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych w specjalności farmakokinetyka.

Swoją wiedzę poszerzałam poprzez udział w licznych konferencjach. W trakcie studiów doktoranckich brałam udział w sześciu konferencjach krajowych (jedno wystąpienie ustne, pięć w formie plakatów naukowych) (**Załącznik 4 II/7/B: K-15; K-16; K-17; K-18; K-19; K-20**) oraz w dwóch konferencjach międzynarodowych (**Załącznik 4 II/7/A: Z-23; Z-24**). Ponadto brałam udział w kursach, szkoleniach i seminariach poszerzających moje umiejętności w zakresie technik analitycznych (**Załącznik 4 II/11/B: S-15 – S-29**). Ze względu na posiadane prawo wykonywania zawodu farmaceuty uczestniczyłam również w kursach organizowanych w ramach ciągłych szkoleń farmaceutów zatrudnionych w aptekach i hurtowniach farmaceutycznych, m.in. w projekcie „Opracowanie i wdrożenie programów kształcenia z zakresu medycyny i farmacji metodą e-learningu na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi” (**Załącznik 4 II/11/B: S-16 – S-22, S-28, S-29**). Doświadczenie zdobywałam również poprzez udział w badaniach prowadzonych w ramach pięciu prac magisterskich dotyczących zagadnień związanych z realizacją tematyki mojej pracy doktorskiej, których promotorem była Prof. dr hab. Joanna Szymura-Oleksiak. Wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań dotyczących oceny procesu wiązania związku DL76 (1-[3-(tertbutylofenoksy)propylo]piperidyna) z albuminą techniką dializy równowagowej zostały opublikowane w pracy oryginalnej (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-15**). Na realizację powyższych badań uzyskałam w roku 2011 wsparcie finansowe z Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach dotacji celowej na rozwój młodych naukowców (projekt pt. „Badanie klirensu wewnętrznego związku DL76, antagonisty receptora H_3 histaminowego

u szczurów”, K/DSC/000259, kierownik projektu). Na prowadzone badania uzyskano zgodę I Lokalnej Komisji Etycznej do spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Krakowie (Uchwała nr 34/2009 z dnia 26 marca 2009 r.).

Po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora nauk farmaceutycznych wyniki badań związanych z oceną farmakokinetyki związku DL76 zostały opublikowane w dwóch pracach oryginalnych (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-6, O-14**).

5.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych z uwzględnieniem informacji o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych w roku 2014 zostałam zatrudniona na stanowisku adiunkta w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej pod kierownictwem Prof. dr hab. Jana Krzeka. Od momentu zatrudnienia w Katedrze moja aktywność naukowa była związana z badaniami fotostabilności substancji czynnych z grupy leków przeciwwgrzybiczych, w które wprowadziła mnie dr hab. Urszula Hubicka, obecny kierownik Zakładu Chemii Analitycznej. Badania nad fotostabilnością substancji czynnych leków oraz gotowych produktów leczniczych, podobnie jak badania stabilności są niezwykle istotne z punktu widzenia skutecznej i bezpiecznej terapii farmakologicznej. Poszerzyłam więc swoją wiedzę o zasady przeprowadzania testów fotostabilności zgodnie z rekomendacjami Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (ICH). W ramach prowadzonych badań zapoznałam się z zagadnieniami fotolizy oraz fotokatalizy z wykorzystaniem tlenku tytanu(IV) i tlenku cynku(II). Szczególnie interesujące były dla mnie zagadnienia wpływu substancji współobecnych na proces fotodegradacji substancji czynnych leków ze szczególnym uwzględnieniem substancji promieniochronnych oraz tematyka poprawy fotostabilności analizowanych substancji. Badania prowadziłam z wykorzystaniem gotowych postaci leków, jak również odpowiednio przygotowanych formułacji. Wspólnym punktem badań prowadzonych przez mnie podczas doktoratu i w aktualnym miejscu mojego zatrudnienia była ocena kinetyki zachodzących procesów. Poznane wcześniej prawidłowości farmakokinetyczne związane z procesami ADME ułatwiły mi analizę kinetyki reakcji chemicznych. Wszystkie działania dotyczące oceny fotostabilności badanych substancji czynnych leków zostały poprzedzone opracowaniem oraz wykonaną przeze mnie walidacją metod analitycznych zgodnie z wytycznymi ICH. Zastosowanie techniki UHPLC/MS/MS do analizy ilościowej oraz ustalenia struktury powstających produktów degradacji było możliwe dzięki współpracy z dr Pawłem Żmudzkim z Katedry Chemii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego UJ CM. Zastosowanie nowoczesnej techniki analitycznej dało gwarancję wykrycia zanieczyszczeń powstałych w procesie fotodegradacji na bardzo niskim poziomie stężeń. Powstające produkty fotodegradacji badanej substancji czynnej, analogicznie jak metabolity leku w organizmie człowieka, mogą nie posiadać działania farmakologicznego, wykazywać działanie

zbliżone lub korzystniejsze od zastosowanej substancji czy też działanie toksyczne. Szeroko stosowanym sposobem określenia ewentualnego działania cytotoksycznego nieznannej substancji na wybrane do badań linie komórkowe jest test MTT. Ocena cytotoksyczności produktów fotokatalitycznej degradacji badanych leków przeciwgrzybiczych została przeprowadzona z wykorzystaniem linii komórkowej fibroblastów ludzkich (BJ) ATCC™ CRL – 2522 dzięki współpracy z dr Pauliną Koczurkiewicz-Adamczyk z Zakładu Biochemii Farmaceutycznej UJ CM. Omówione badania prowadziłam w ramach projektu dofinansowanego z dotacji dla młodych naukowców w ramach dotacji celowej MNiSW w latach 2016-2018, którego byłam kierownikiem. Zrealizowany projekt zaowocował 4 publikacjami o łącznym IF=8.853 [H-2,H-3,H-4,H-5] oraz doniesieniami konferencyjnymi (**Załącznik 4 II/7/A: Z-14; Załącznik 4 II/7/B: K-13, K-14**).

Szczególnie zainteresowałam się tematyką fotostabilności leków w aspekcie praktycznym (*ang.* in-use photostability). Leki dermatologiczne aplikowane są miejscowo na skórę, co warunkuje duże prawdopodobieństwo narażenia na działanie promieniowania UVA i UVB. Z tego względu w swoich pracach skupiłam się na ocenie fotostabilności leków przeznaczonych do stosowania zewnętrznego. Nader interesująca była dla mnie kwestia wpływu filtrów UV fizycznych i chemicznych, które zostały dopuszczone do stosowania w produktach kosmetycznych na terenie Europy i USA na fotostabilność leków. W roku 2018 złożyłam wniosek w konkursie Narodowego Centrum Nauki Miniatura 2 pt. „Ocena wpływu promieniowania UV na fotostabilność retinoidów stosowanych na skórę w obecności substancji promieniochronnych” i otrzymałam finansowanie na pojedyncze działanie naukowe służące realizacji badań podstawowych. Przegląd piśmiennictwa naukowego dokonany w celu przygotowania wniosku oraz jego realizacji zaowocował publikacją przeglądową dotyczącą fotostabilności leków dermatologicznych przeznaczonych do stosowania zewnętrznego [H-6]. Efektem zrealizowanego projektu są 2 publikacje o łącznym IF=8.842 [H-1,H-6] oraz aktywny udział w konferencjach krajowych i międzynarodowych (**Załącznik 4 II/7/A: Z-3, Z-8, Z-12, Z-15; Załącznik 4 II/7/B: K-1, K-6**). Podczas pracy nad projektem nawiązałam współpracę naukową z Dziekanem Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu w Szeged na Węgrzech, Kierownikiem Katedry Farmakodynamiki i Biofarmacji (**Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet**), Prof. dr hab. Istvánem Zupkó. Wyniki wspólnych badań dotyczących fotostabilności tazarotenu zostały już opublikowane [H-1]. Obecnie trwają prace nad publikacją dotyczącą drugiego retinoidu – beksarotenu, które zostały poszerzone o nowe zagadnienia naukowe, wykraczające poza założenia projektu finansowanego przez NCN – Miniatura 2. Rezultatem prowadzonych we współpracy z Wydziałem Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged badań nad beksarotenem jest dotychczas doniesienie zaprezentowane podczas konferencji międzynarodowej (**Załącznik 4 II/7/A: Z-12**).

Moja współpraca międzynarodowa rozpoczęła się w roku 2018, kiedy w ramach programu **CEEPUS (Środkowoeuropejski Program Wymiany Uniwersyteckiej)** dzięki współpracy Prof. dr hab. Włodzimierza Opoki i Prof. dr hab. Bożeny Muszyńskiej z Prof. dr hab. Jozsefem Gál otrzymałam zaproszenie na staż naukowy, który odbyłam na Wydziale Inżynierii Uniwersytetu w Szeged, Węgry (**Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar**). Podczas pobytu miałam zaszczyt wygłosić wykład

plenarny pt.” Mycoremediation – biotechnological and environmental aspects for safety of humans and animals” na konferencji International Conference on Science, Technology, Engineering and Economy (ICOSTE 2018) obok takich osobistości jak Dr Matthias Sunder, Senior Manager, Henkel AG and Csaba Havasi, Director, Linamar Hungary. Celem mojej wizyty było też nawiązanie kontaktów i współpracy naukowej z Wydziałem Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged (Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar). W roku 2019 ponownie odbyłam staż na Uniwersytecie w Szeged (**Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar**) korzystając z programu CEEPUS. W tym samym czasie w ramach współpracy między Uniwersytetem Jagiellońskim Collegium Medicum w Krakowie a Uniwersytetem w Szeged odbyło się sympozjum „1st Hungarian-Polish Interdisciplinary Scientific Symposium on the pharmaceutical and biological potential of natural origin substances”, podczas którego przedstawiłam dwie prezentacje ustane pt.” Photostability of retinoids” oraz “The potential of edible mushrooms in drugs’ remediation”. W roku 2020 odbyłam konsultacje naukowo-badawcze na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged związane z badaniami nad retinoidem III generacji – tazarotenem, które poprzedzały opublikowanie pracy [**H-1**]. W trakcie mojego pobytu wzięłam udział w konferencji hybrydowej 21st International Medical Esperanto Congress “Covid-19 Pandemic: History, Current Status and Consequences” w Hódmezővásárhely gdzie zaprezentowałam wyniki wspólnie zrealizowanych badań fotostabilności beksarotenu (**Załącznik 4 II/7/A: Z-12**). Brałam również udział w konferencji online zorganizowanej we współpracy m.in. z Wydziałem Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged – 3rd International Conference of Pharmaceutical and Medical Sciences, 24-26 września 2020, Kraków, Martin, Szeged.

Moje horyzonty naukowe zostały poszerzone dzięki współpracy z Prof. dr hab. Bożeną Muszyńską i dr hab. Katarzyną Sułkowską-Ziają z Katedry i Zakładu Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Pierwsza wspólna publikacja dotyczyła wykorzystania kultur mycelialnych jako modelu do badań związanych z remediacją metali ciężkich – kadmu i ołowiu (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-11**). Przeanalizowano potencjał do remediacji metali ciężkich przez biomasę z kultur mycelialnych: *Imleria badia* – podgrzybek brunatny, *Laetiporus sulphureus* – żółciak siarkowy oraz *Agaricus bisporus* – pieczarka dwuzarodnikowa. Mój udział w przeprowadzonym eksperymencie polegał na analizie ilościowej jonów Cd(II) i Pb(II) w zmineralizowanym materiale techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej oraz ocenie statystycznej otrzymanych wyników. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano duży potencjał mykoremediacji, jako techniki do oczyszczania gleby z metali ciężkich. Ponadto brałam udział w oznaczaniu zawartości fizjologicznie aktywnych pierwiastków w różnych częściach owocników *Agaricus bisporus* oraz metabolitów wtórnych m.in. lowastatyny w owocnikach i kulturach *in vitro* grzybów wielkoowocnikowych (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-3**). Badając proces fotodegradacji leków nie mogłam pominąć aspektu ich losów w środowisku, dlatego zainteresowałam się tematyką zanieczyszczenia środowiska przez leki oraz badaniami z zakresu ich bioremediacji. Korzystając z uzyskanego doświadczenia w pracach z wykorzystaniem kultur *in vitro* grzybów wielkoowocnikowych, w badaniach nad biodegradacją leków przeciwgrzybiczych zastosowałam proces mykoremediacji, który opiera się na wykorzystaniu grzybów do usuwania zanieczyszczeń ze

środowiska (gleby). W ramach prowadzonych badań następujące substancje czynne: klotrimazol, bifonazol i terbinafina zostały przebadane pod względem efektywności procesu ich mykoremediacji z uwzględnieniem wpływu postaci leku na zdolność remediacji przez biomasę z kultur mycelialnych. Na przeprowadzone badania pozyskałam finansowanie z Programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Dotacja na utrzymanie potencjału badawczego Wydziałów UJ CM (N42/DBS/000030, czas trwania 2019-2020). Wyniki przeprowadzonych badań zostały zawarte w 2 publikacjach oryginalnych o łącznym IF=3.596 i przedstawione w formie wystąpień ustnych na konferencjach międzynarodowych, jak również w formie posterów (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-2, O-8**).

W ramach współpracy Prof. dr hab. Włodzimierza Opoki z Prof. dr hab. Gabrielem Nowakiem z Zakładu Neurobiologii Pracowni Neurobiologii Pierwiastków Śladowych Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie prowadziłam oznaczenie cynku w materiale klinicznym pochodzącym od osób chorujących na depresję i samobójców z zastosowaniem woltamperometrii strippingowej (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-13**). Ze względu na działalność Prof. dr hab. Włodzimierza Opoki w Ogólnopolskiej Sekcji ds. Sfałszowanych Leków i Produktów Leczniczych przy Zarządzie Głównym PTFarm zainteresowałam się rolą farmaceuty w kontroli suplementów diety w celu zapewnienia ich jakości oraz bezpieczeństwa stosowania. Współuczestniczyłam w badaniach dotyczących oceny składu suplementów diety, których celem było oznaczenie zawartości cynku, żelaza, manganu, sodu i potasu w wybranych odżywkach stosowanych przez osoby uprawiające sport z zastosowaniem techniki absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Wyniki przeprowadzonych badań zostały zaprezentowane na konferencji oraz opublikowane (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-4; Załącznik 4 II/7/B: K-5**). Ponadto brałam udział w realizacji eksperymentalnych prac magisterskich dotyczących oznaczenia cynku i chromu w preparatach pochodzenia naturalnego wspomagających terapię cukrzycy oraz w oznaczaniu cynku w wybranych preparatach działających ochronnie na skórę. Ze względu na to, że jestem z wykształcenia farmaceutką, działalność naukowa związana z zapewnieniem jakości produktów leczniczych, suplementów diety i kosmetyków jest dla mnie szczególnie ważna. Działalność naukową staram się łączyć z aktywnością organizacyjną, toteż należę do Okręgowej Izby Aptekarskiej w Krakowie oraz do Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, gdzie pełnię funkcję sekretarza Zarządu Oddziału Kraków.

Praca w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej pozwoliła mi na doskonalenie warsztatu pracy z zakresu przeprowadzania analizy próbek materiału biologicznego (tkanki pochodzące od zwierząt i ludzi, grzyby wielkoowocnikowe oraz mycelium z kultur *in vitro*), leków, suplementów diety oraz próbek środowiskowych, poczynając od ich pobrania, poprzez ich przygotowanie (w tym mineralizację) oraz oznaczenie następującymi metodami analitycznymi: woltamperometria strippingowa, spektrofotometria UV-VIS, chromatografia cieczowa oraz absorpcyjna spektrometria atomowa. Brałam udział w licznych szkoleniach, kursach i seminariach w tym zakresie (**Załącznik 4 II/11/B: S-9 - S-11, S-15, S-23, S-24, S-26**). Ponadto zainteresowałam się oceną statystyczną wyników badań i swoje umiejętności doskonaliłam m.in. podczas warsztatów statystycznych przeprowadzonych przez Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny UJ CM w Krakowie w wymiarze 32 godzin dydaktycznych (**Załącznik 4 II/11/B: S-14**). Swoją wiedzę dotyczącą prowadzenia badań na

zwierzętach laboratoryjnych, którą nabyłam podczas wykonywania eksperymentów w ramach doktoratu uaktualniałam poprzez szkolenia, m.in. otrzymałam certyfikat PolLASA, który uprawnia do planowania i wykonywania doświadczeń na zwierzętach doświadczalnych zgodnie z nową ustawą dotyczącą doświadczeń na zwierzętach laboratoryjnych (**Załącznik 4 II/11/B: S-12**).

Obecnie we współpracy z Prof. dr hab. Istvánem Zupkó (Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar) oraz dr Pawłem Żmudzkim z Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM kontynuuję badania związane z fotostabilnością i cytotoksycznością retinoidów III generacji, które rozpoczęłam w ramach grantu Miniatura 2. Realizowane prace dotyczą oceny fotostabilności beksarotenu – retinoidu przeznaczonego do leczenia zmian skórnych w zaawansowanym stadium chłoniaka skórniego T-komórkowego oraz właściwości cytotoksycznych produktów jego degradacji. Planuję również przeprowadzenie oceny fotostabilności trifarotenu, retinoidu zarejestrowanego w październiku 2019 roku w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej do miejscowego leczenia trądziku pospolitego twarzy i/lub tułowia. Ponadto w ramach moich obecnych zainteresowań naukowych są badania fotostabilności substancji promieniochronnych dopuszczonych do stosowania na terenie Unii Europejskiej.

W związku z pandemią COVID-19 w bieżącym roku zainteresowałam się tematyką środków dezynfekujących skutecznych wobec wirusa SARS-CoV-2. Wspólnie z Prof. dr hab. Jolantą Pytko-Polończyk oraz lek. dent. Magdaleną Stawarz-Janeczko z Zakładu Stomatologii Zintegrowanej Instytutu Stomatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, Prof. dr hab. Bożeną Muszyńską z Katedry i Zakładu Botaniki Farmaceutycznej oraz Prof. dr hab. Włodzimierzem Opoką dokonano analizy informacji naukowych dotyczących środków dezynfekujących stosowanych w gabinetach stomatologicznych w celu zminimalizowania rozprzestrzeniania się wirusa SARS-CoV-2. Dotychczas zaprezentowano cztery doniesienia konferencyjne (**Załącznik 4 II/7/A: Z-10, Z-11, Z-13; Załącznik 4 II/7/B: K-3**) oraz przygotowano manuskrypt, który został zaakceptowany przez *European Journal of Dentistry*.

5.3. Podsumowanie całego dorobku naukowego

Aktualnie mój cały dorobek naukowy zawiera 25 artykułów oryginalnych i przeglądowych, z których 21 to prace anglojęzyczne w czasopismach o zasięgu międzynarodowym z impact factorem (IF). Łączna liczba doniesień i komunikatów zjazdowych wynosi 45, w tym streszczenia zjazdowe zagraniczne – 23, streszczenia zjazdowe polskie o zasięgu międzynarodowym – 2, streszczenia zjazdowe polskie – 20. Wygłosiłam jeden wykład plenarny oraz pięć prezentacji ustnych na konferencjach międzynarodowych. **Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF publikacji recenzowanych wynosi 44.372. Łączna wartość punktacji MNiSW wynosi 1131.** Całkowita liczba cytowań (Web of Science Core Collection) wynosi 67, a **indeks Hirscha** (Web of Science Core Collection) jest równy 6.

Wykaz publikacji oryginalnych z IF, po uzyskaniu stopnia doktora (innych niż stanowiące podstawę habilitacji):

1. Podkowa A, **Kryczyk-Poprawa A**, Opoka W, Muszyńska B. Culinary medicinal mushrooms: a review of organic compounds and bioelements with antioxidant activity. *Eur Food Res Technol.* **2020**. doi:10.1007/s00217-020-03646-1

IF = 2,366 MNiSW = 70 pkt

2. **Kryczyk-Poprawa A**, Piotrowska J, Żmudzki P, Opoka W, Muszyńska B. Feasibility of the use of *Lentinula edodes* mycelium in terbinafine remediation. *3 Biotech.* **2020**;10(4):184. doi: 10.1007/s13205-020-02177-6.

IF = 1,798 MNiSW = 70 pkt

3. Kała K, **Kryczyk-Poprawa A**, Rzewińska A, Muszyńska B. Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin. *Eur Food Res Technol.* **2020**;246:713–722. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03435-w>

IF = 2,366 MNiSW = 70 pkt

4. Opoka W, **Kryczyk-Poprawa A**, Studzińska M, Piotrowska J, Muszyńska B. The comparison of trace elements content with labels on dietary supplements used by athletes. *Acta Pol. Pharm.* **2020**;77(4):563-570.

IF = 0,456 MNiSW = 40 pkt

5. Opoka W, **Kryczyk A**, Krakowska A, Piotrowska J, Gdula-Argasińska J, Kała K, Linek M, Muszyńska B. The evaluation of effect of selected metal ions on the efficiency of passive and active transport of imipramine. *Psychiatr Pol.* **2019**;53(5):1169-1179. doi: 10.12740/PP/92301.

IF = 1,190 MNiSW = 40 pkt

6. Hubicka U, Krzek J, Żmudzki P, Żuromska-Witek B, Motyl D, **Kryczyk A**. Determination of fluconazole and its oxidation products with kinetic evaluation under potassium permanganate treatment in acidic solutions by ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Acta Pol. Pharm.* **2019**;76(1):19-27.

IF = 0,456 MNiSW = 40 pkt

7. **Kryczyk-Poprawa A**, Szafarz M, Polak A, Łażewska D, Kuś K, Opoka W, Szymura-Oleksiak J. Determination of *in vitro* metabolism of a new non-imidazole histamine H3 receptor antagonist 1-[3-(4-tert-butylphenoxy) propyl]piperidine. *Acta Pol. Pharm* **2019**;76(5):877-884.

IF = 0,456 MNiSW = 40 pkt

8. Popiół J, Gunia-Krzyżak A, Piska K, Żelaszczyk D, Koczurkiewicz P, Słoczyńska K, Wójcik-Pszczółka K, Krupa A, **Kryczyk-Poprawa A**, Żesławska E, Nitek W, Żmudzki P, Marona H, Pękala E. Discovery of Novel UV-Filters with Favorable Safety Profiles in the 5-Arylideneimidazolidine-2,4-dione Derivatives Group. *Molecules*. **2019**;24(12):2321. doi: 10.3390/molecules24122321.

IF = 3,267 MNiSW = 100 pkt

9. **Kryczyk-Poprawa A**, Żmudzki P, Maślanka A, Piotrowska J, Opoka W, Muszyńska B. Mycoremediation of azole antifungal agents using *in vitro* cultures of *Lentinula edodes*. *3 Biotech*. **2019**;9(6):207. doi: 10.1007/s13205-019-1733-5.

IF = 1,798 MNiSW = 70 pkt

10. Opoka W, Piotrowska J, Krakowski A, **Kryczyk A**, Sałat K, Zygmunt M, Librowski T, Muszyńska B. Effect of selected drugs on zinc accumulation in teeth of laboratory animals. *Pharmacol Rep*. **2018**;70(4):684-687. doi: 10.1016/j.pharep.2018.02.006.

IF = 2,761 MNiSW = 25 pkt

11. **Kryczyk A**, Piotrowska J, Sito M, Sulkowska-Ziaja K, Dobosz K, Opoka W, Muszyńska B. Remediation capacity of Cd and Pb ions by mycelia of *Imleria badia*, *Laetiporus sulphureus*, and *Agaricus bisporus* *in vitro* cultures. *J Environ Sci Health B*. **2017**;52(9):617-622. doi: 10.1080/03601234.2017.1330068.

IF = 1,273 MNiSW = 20 pkt

12. Muszyńska B, Piotrowska J, Krakowska A, Gruba A, Kała K, Sułkowska-Ziaja K, **Kryczyk A**, Opoka W. Study of physiologically active components in different parts of fruiting bodies of varieties of *Agaricus bisporus* (white mushroom). *Eur Food Res Technol*. **2017**;243(12):2135-2145. doi.org/10.1007/s00217-017-2914-2

IF = 1,919 MNiSW = 30 pkt

13. Rafalo-Ulinska A, Piotrowska J, **Kryczyk A**, Opoka W, Sowa-Kucma M, Misztak P, Rajkowska G, Stockmeier CA, Datka W, Nowak G, Szewczyk B. Zinc transporters protein level in postmortem brain of depressed subjects and suicide victims. *J Psychiatr Res*. **2016**;83:220-229. doi: 10.1016/j.jpsychires.2016.09.008.

IF = 4,183 MNiSW = 40 pkt

14. Szafarz M, **Kryczyk A**, Łażewska D, Kiec-Kononowicz K, Wyska E. Pharmacokinetics and tissue distribution of the new non-imidazole histamine H3 receptor antagonist 1-[3-(4-tert-butylphenoxy) propyl]piperidine in rats. *Xenobiotica*. **2015**;45(10):912-20. doi: 10.3109/00498254.2015.1025117.

IF = 1,723 MNiSW = 20 pkt

Przebyte szkolenia i kursy po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych

Warsztaty dydaktyczne *Ars Docendi* – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego pt. „Etykieta nauczyciela akademickiego”, Kraków, 2019/2020

Kurs obsługi programu Origin – graficzna wizualizacja danych oraz podstawy analizy danych w środowisku programu, Kraków, 18-19.09.2019

Kurs w ramach projektu ZintegrUJ Kompleksowy Program Rozwoju Uniwersytetu Jagiellońskiego pt. „Twój student z niepełnosprawnością”, Kraków, 9.05.2019

Kurs w ramach projektu Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego pt. „Własność intelektualna”, Kraków, 2018/2019

„Tydzień jakości kształcenia” na Uniwersytecie Jagiellońskim, Kraków, 8-12.04.2019

Warsztaty dydaktyczne Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego pt. „Emisja głosu”, Kraków, 2018/2019

Kurs obsługi programu CorelDraw – rozwiązania graficzne w dydaktyce – kurs podstawowy, Projekt POWER "Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego", Kraków, 10-11.05.2018

Warsztaty dydaktyczne Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego – **”Teaching in University Science Laboratories (Developing Best Practice)”**, kurs online autoryzowany przez **University of Amsterdam, 29.11.2017-31.01.2018**

Badania kliniczne produktów leczniczych w ujęciu praktycznym, Zakład Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Kraków, 13-14.02.2017

Kurs dobrej praktyki klinicznej (ICH GCP) dla badaczy i zespołów badawczych, Małopolski Ośrodek Medycyny Translacyjnej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum oraz Szpital Uniwersytecki w Krakowie, Kraków, 8.10.2016

Metody monitorowania procesów i optymalizacji reakcji chemicznych, Mettler-Toledo, Kraków, 17.05.2016

Szkolenie Polskiego Towarzystwa Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych, 14-18.09.2015, zakres:

1. Szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń oraz za ich przeprowadzanie
2. Szkolenie dla osób wykonujących procedury
3. Szkolenie dla osób uśmiercających zwierzęta wykorzystywane w procedurach.

Zafałszowane leki i wyroby medyczne, Studium Kształcenia Podyplomowego Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, 18.06.2015

V Warsztaty Statystyczne, Spotkania warsztatowe, Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, 06.2015

Recenzje prac naukowych

Jestem recenzentem prac naukowych publikowanych w czasopismach, takich jak:

Journal of Cleaner Production (IF=7,246)

Chemical Research in Toxicology (IF=3,184)

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (IF=3,209)

3 Biotech (1,798)

Journal of Chromatographic Science (IF=1,280)

Genes (IF=3,759)
Catalysts (IF=3,520)
Materials (IF=3,057)
Processes (IF=2,753)
Coatings (IF=2,436)
Medicina Internacia Revuo (Index Copernicus)

Staż naukowe

W ramach środkowoeuropejskiego programu wymiany akademickiej CEEPUS dwukrotnie otrzymałam stypendium i odbyłam staż:

- 24-30.10.2018 – staż na Wydziale Inżynierii Uniwersytetu w Szeged, Węgry (Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar). Podczas pobytu poprowadziłam następujące wykłady: „Environmental biotechnology”, „Sun protection” and „Bioremediation and biodegradation of drugs”. Na zaproszenie organizatorów konferencji International Conference on Science, Technology, Engineering and Economy (ICOSTEE 2018), Faculty of Engineering, University of Szeged, Hungary wygłosiłam wykład plenarny pt. “Mycoremediation - biotechnological and environmental aspects for safety of humans and animals”.
- 23-27.09.2019 – staż na Wydziale Inżynierii Uniwersytetu w Szeged, Węgry (Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar). Podczas pobytu nawiązałam współpracę naukowo-badawczą z Prof. dr hab. Istvánem Zupkó, Dziekanem Wydziału Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged (Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar).
- 16-19.07.2020 – konsultacje naukowo-badawcze na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged, Węgry (Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar).

W marcu 2011 odbyłam staż w Zakładzie Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie pod opieką Prof. dr hab. Władysławy Daniel w celu nauki technik pozyskiwania mikrosomów i otrzymywania izolowanej frakcji mikrosomalnej i cytozolowej wątroby szczura (wirowanie różnicowe).

Udział w projektach badawczych

Kierownik projektu: Narodowe Centrum Nauki – Miniatura 2, „Ocena wpływu promieniowania UV na fotostabilność retinoidów stosowanych na skórę w obecności substancji promieniochronnych”, Narodowe Centrum Nauki – Miniatura 2, 2018/02/X/NZ7/01016, 2018-2019.

Kierownik Projektu: Program Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Dotacja na utrzymanie potencjału badawczego Wydziałów UJ CM, tzw. „Projekty statutowe”, „Mykoremediacja wybranych leków przeciwgrzybiczych”, N42/DBS/000030, 2019-2020.

Kierownik projektu: Projekt finansowany z dotacji dla młodych naukowców w ramach dotacji celowej MNiSW „Badanie procesu fotokatalitycznej degradacji wybranych leków przeciwgrzybiczych

z uwzględnieniem kinetyki tego procesu oraz identyfikacja powstających fotoproduktów”, K/DSC/003522, 2016-2018.

Kierownik Projektu: Projekt finansowany z dotacji dla młodych naukowców w ramach dotacji celowej MNiSW, „Badanie klirensu wewnętrznego związku DL76, antagonisty receptora H₃ histaminowego u szczurów”, K/DSC/000259, 2011.

Współpraca z jednostkami naukowymi w kraju i za granicą

- Department of Pharmacodynamics and Biopharmacy, University of Szeged, Hungary (Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar); Interdisciplinary Center for Natural Products, University of Szeged, Hungary – Prof. dr hab. István Zupkó, Dean of Faculty of Pharmacy oraz MSc Péter Bérdi

Współpraca dotyczy realizacji projektu badawczego. Prowadzona jest ocena cytotoksyczności retinoidów III generacji i ich produktów fotodegradacji w stosunku do ludzkich linii komórek nowotworowych estrogenoniezależnego raka piersi (MDA-MB-231), raka szyjki macicy (HeLa) oraz raka jajnika (A2780) z zastosowaniem testu MTT.

W lipcu 2020 roku w ramach współpracy z Wydziałem Farmaceutycznym Uniwersytetu w Szeged odbyłam konsultacje naukowo-badawcze związane z przygotowawaną publikacją [H-1].

Planowana jest dalsza współpraca, z którą związana jest perspektywa wspólnych publikacji w najbliższej przyszłości.

- Faculty of Engineering, University of Szeged, Hungary (Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar) – Prof. dr hab. Gál József

Dwukrotnie odbyłam staż:

I) 24-30.10.2018 roku, Program CEEPUS – stypendium krótkoterminowe w ramach staży naukowych.

II) 23-27.09.2019 roku, Program CEEPUS – stypendium krótkoterminowe w ramach staży naukowych.

- Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie – Prof. dr hab. Bożena Muszyńska, dr hab. Katarzyna Sułkowska-Ziaja

Współpraca dotyczy oceny zdolności remediacji ksenobiotyków przez biomasę z kultur mycelialnych gatunków grzybów wielkoowocnikowych w warunkach *in vitro*. Ponadto badano stopień akumulacji leków oraz zawartość biopierwiastków i bioaktywnych metabolitów w kulturach mycelialnych. Efektem współpracy są doniesienia zjazdowe, publikacje oraz wygłoszony przez mnie wykład plenarny pt. „Mycoremediation - Biotechnological and

Environmental Aspects For Safety OF Humans and animals” (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-11, O-12, Załącznik 4 II/7/A: Z-1, Z-4, Z-5, Z-7, Z-16, Z-18, Z-22**).

Obecnie realizowany jest projekt „Mykoremediacja wybranych leków przeciwgrzybiczych”, N42/DBS/000030, 2019-2020, którego efektem są dwie publikacje i doniesienia zjazdowe (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-2, O-8**).

- Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie – dr Paweł Żmudzki

Współpraca dotyczy analizy techniką UHPLC/MS/MS oraz identyfikacji powstających produktów fotodegradacji. Efektem współpracy są doniesienia konferencyjne oraz publikacje (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, O-2, O-8**).

- Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie – Prof. dr hab. Elżbieta Pękała, dr Paulina Koczurkiewicz-Adamczyk, mgr Justyna Popiół

Współpraca dotyczy badań cytotoksyczności produktów fotodegradacji leków z zastosowaniem testu MTT. Efektem współpracy są dwie publikacje oryginalne [**H-2, H-3**].

- Zakładu Neurobiologii, Pracowni Neurobiologii Pierwiastków Śladowych Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie - Prof. dr hab. Gabriel Nowak

W ramach współpracy prowadziłam oznaczenie cynku w materiale klinicznym pochodzącym od osób chorujących na depresję i samobójców z zastosowaniem woltamperometrii stripingowej (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-13**).

- Zakład Stomatologii Zintegrowanej, Instytut Stomatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie - Prof. dr hab. Jolanta Pytko-Polończyk, lek. dent. Magdalena Stawarz-Janeczko

Celem współpracy jest usystematyzowanie wiedzy dotyczącej środków dezynfekujących stosowanych w stomatologii skutecznych wobec wirusa SARS-CoV-2. Do chwili obecnej zaprezentowano cztery doniesienia zjazdowe (**Załącznik 4 II/7/A: Z-10, Z-11, Z-13; Załącznik 4 II/7/B: K-3**) oraz przygotowano publikację przeglądową pt. „Disinfectants used in stomatology and SARS-CoV-2 infection”, która została przyjęta do *European Journal of Dentistry* (**MNiSW=100**). Planowane są również projekty badawcze.

Działalność w towarzystwach naukowych

od 2008	Członek – Okręgowa Izba Aptekarska w Krakowie
od 2016	Członek – Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne Oddział Kraków
od 2018	Sekretarz – Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne Oddział Kraków

6. Działalność dydaktyczna

Od września 2014 jestem zatrudniona w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum na stanowisku adiunkta. Jestem zaangażowana w realizację zajęć dydaktycznych (ćwiczenia laboratoryjne i seminaria) z przedmiotów Chemia ogólna i nieorganiczna, Chemia analityczna oraz Chemia instrumentalna na kierunkach farmacja i analityka medyczna. Uczestniczyłam w przygotowaniu nowego ćwiczenia dla studentów kierunku farmacja – „Bromianometryczne oznaczanie chlorowodoru chininy w substancji” co łączyło się również z opracowaniem zamieszczonym w skrypcie „Wybrane ćwiczenia z analizy wagowej i miareczkowej”, którego jestem współautorem (**Załącznik 4 II/2: M-1**). Ponadto opracowałam i prowadzę ćwiczenie dotyczące oznaczania cynku – „Oznaczanie cynku w preparatach farmaceutycznych metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej” w ramach przedmiotu chemia analityczna. Realizuję ćwiczenia z przedmiotów Analiza instrumentalna oraz Chemia analityczna dla studentów kierunków farmacja i analityka medyczna oraz seminarium dotyczące technik przygotowywania próbek do analizy dla studentów kierunku analityka medyczna. Od roku akademickiego 2017/2018 biorę udział w realizacji zajęć z przedmiotu Chemistry in pharmaceutical sciences dla kierunku Drug Discovery and Development (2nd master's degree studies at Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University – Medical College). Opracowałam i prowadzę ćwiczenia dotyczące oznaczania pierwiastków w suplementach diety techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej („Determination of zinc and lead in pharmaceutical preparations by atomic absorption spectrometry”) oraz seminarium dotyczące zastosowania metod spektroskopowych („Spectroscopic methods”).

Byłam opiekunem 4 prac magisterskich, których promotorem był Prof. dr hab. Włodzimierz Opoka oraz promotorem 3 prac magisterskich o tematyce związanej ze stabilnością substancji leczniczych przeznaczonych do stosowania zewnętrznego w dermatologii oraz fotostabilnością retinoidów. Starałam się zainteresować studentów realizowaną tematyką prac magisterskich, jak również zachęcić ich do prezentowania wyników podczas konferencji naukowych (**Załącznik 4 II/7/A: Z-14, Z-15; Załącznik 4 II/7/B: K-2, K-6, K-8**). Ponadto wyniki badań prowadzonych w ramach prac magisterskich, których byłam opiekunem lub promotorem stanowiły podstawę późniejszych publikacji (**Załącznik 4 II/4/A: publikacja O-4, O-9, O-11**). Powierzono mi również recenzowanie pięciu prac magisterskich realizowanych w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum.

Obecnie jestem koordynatorem dwóch przedmiotów fakultatywnych zaakceptowanych przez Komisję Programową na kierunku farmacja oraz analityka medyczna na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Opracowałam sylabus i zgłosiłam nowy przedmiot fakultatywny dla kierunku farmacja Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, który został wprowadzony w roku akademickim 2017/2018 – "Choroby nie znają granic. Co farmaceuta powinien wiedzieć o zagrożeniach towarzyszących egzotycznym podróżom?". Fakultet został przygotowany we współpracy z Prof. dr hab. med. Aleksandrem Garlickim z Kliniki

Chorób Zakaźnych i Tropikalnych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Po modyfikacji sylabusu fakultet został wprowadzony w roku akademickim 2018/2019 również dla studentów kierunku analityka medyczna. Fakultet ten jest realizowany we współpracy z dr hab. n. med. Moniką Bociągą-Jasik i dr n. med. Anną Kalinowską-Nowak (Klinika Chorób Zakaźnych i Tropikalnych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum) oraz mgr analityki medycznej Katarzyną Mastalską (Zakład Mikrobiologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie).

Staram się ciągle podnosić swoje kompetencje dydaktyczne poprzez udział w szkoleniach oferowanych przez Uniwersytet Jagielloński nauczycielom akademickim, m.in. w ramach projektu „*Ars Docendi* – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry UJ” (*Załącznik 4 II/11/B: S-1, S-2, S-4, S-6, S-7, S-8*). Uczestniczyłam w kursach doskonalących moje umiejętności pracy z programami do obróbki grafiki, które wykorzystywałam w trakcie przygotowywania seminariów dla studentów oraz prezentowania wyników badań (program Origin oraz CorelDraw). W 2018 roku ukończyłam kurs dla nauczycieli prowadzących zajęcia laboratoryjne z chemii i biochemii pt. „Teaching in University Science Laboratories. Developing Best Practice”, realizowany w systemie mieszanym (spotkania stacjonarne oraz na platformie Coursera). Kurs ten powstał dzięki współpracy *Ars Docendi* z European Chemistry Thematic Network, Working group Lecturing Qualifications and Innovative Teaching Methods i jest autoryzowany przez University of Amsterdam. Ukończyłam roczny kurs języka angielskiego „Język angielski specjalistyczny” przeznaczony dla osób realizujących zadania dydaktyczne na rzecz Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w ramach projektu „Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae” w roku akademickim 2010/2011 (*Załącznik 4 II/11/B: S-25*). Każdego roku biorę udział w wykładach i warsztatach organizowanych w ramach Tygodnia Jakości Kształcenia na Uniwersytecie Jagiellońskim.

7. Działalność organizacyjna

Od chwili zatrudnienia w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej brałam udział w organizacji czterech konferencji międzynarodowych:

- 1st International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences, 22-24 lipca 2016 r. Poprad, Słowacja – **sekretarz komitetu organizacyjnego**
- 2nd International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences, 21-23 września 2018 r. Poprad, Słowacja – **członek komitetu organizacyjnego**
- 21st International Medical Esperanto Congress “Covid-19 Pandemic: History, Current Status and Consequences”, 17-18 lipca 2020, Hódmezővásárhely, Węgry (zorganizowanej w sposób hybrydowy ze względu na sytuację epidemiologiczną) – **sekretarz komitetu naukowego**
- 3rd International Conference of Pharmaceutical and Medical Sciences, 24-26 września 2020, Kraków, Martin, Szeged – **sekretarz komitetu naukowego**

W marcu 2018 roku zostałam wybrana do Zarządu PTFarm Oddział Kraków na stanowisko sekretarza. W ramach swoich obowiązków brałam udział w zorganizowaniu Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w 2020 roku, konkursów poprzedzających konferencje naukowe, w których nagrodami były opłaty zjazdowe m.in. na XXIII Naukowy Zjazd PTFarm w Krakowie oraz 2nd International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences. W ramach działalności Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego Oddział Kraków mającej na celu stałe poszerzanie wiedzy farmaceutów biorę udział w organizacji licznych spotkań naukowych, na które z powodzeniem zapraszamy specjalistów z różnych dziedzin nauki. Nadzoruję również stronę internetową Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego Oddział Kraków. W latach 2017-2018 byłam członkiem zespołu redakcyjnego *Medicina Internacia Revuo – International Medicine Review*, czasopisma o zasięgu międzynarodowym.

W 2019 r. Prof. dr hab. Włodzimierz Opoka, Kierownik Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej wystąpił z wnioskiem o przyznanie mi Medalu za Długoletnią Służbę za „wzorowe, wyjątkowo sumienne wykonywanie obowiązków wynikających z pracy zawodowej w służbie Państwu” - otrzymałam Brązowy Medal za Długoletnią Służbę nadany decyzją Prezydenta RP.

Agata Kryczyk-Poprawa