



Prof. dr hab. Agnieszka Bienert

Poznań, 04.01.2024r.

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
Wydział Farmaceutyczny
Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji
ul. Rokietnicka 3
60-806 Poznań
tel. 61 6418356 (sekr. 853)

RECENZJA

osiągnięcia naukowego **Pani dr n. farm. Karoliny Słoczyńskiej: „Dobór i optymalizacja testów alternatywnych wykorzystywanych w ocenie bezpieczeństwa nowych substancji o zdefiniowanej aktywności biologicznej”**, w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Ocenę sporządzono w oparciu o art. 219 ust.1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Dr n. farm. Karolina Słoczyńska uzyskała tytuł magistra analityki medycznej w 2006 roku, na podstawie pracy magisterskiej zatytułowanej: *„Wpływ analogu strukturalnego karwedilolu - enancjomeru S indololu na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy we krwi ludzkiej”*, pod kierunkiem Prof. Marka Stępniewskiego. W roku 2006 rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Farmaceutycznym CMUJ, zwieńczone stopniem doktora nauk farmaceutycznych w specjalności biochemia kliniczna, uzyskanym w roku 2012, na podstawie rozprawy o tytule: *„Ocena wpływu wybranych związków o aktywności krążeniowej na parametry reologiczne i biochemiczne krwinek czerwonych”* (opiekun naukowy: prof. dr hab. Henryk Marona).

Habilitantka od roku 2010 aż do dziś zatrudniona jest przez Uniwersytet Jagielloński w Krakowie (Collegium Medicum). W latach 2010-2014 pracowała na stanowisku asystenta w katedrze Chemii Organicznej, a następnie w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej WF UJCM, gdzie począwszy od roku 2015 do dzisiaj zatrudniona jest na stanowisku asystenta.

Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji

Osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się przez dr Katarzynę Karolinę Słoczyńską o stopień doktora habilitowanego stanowi cykl 8 prac, w tym 6 oryginalnych oraz dwóch przeglądowych (H2 i H7), opublikowanych w latach 2014-2022 w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Prace zostały oznaczone od H1 do H8, a tytuł cyklu to: „Dobór i optymalizacja testów alternatywnych wykorzystywanych w ocenie bezpieczeństwa nowych substancji o zdefiniowanej aktywności biologicznej”. **Sumaryczny IF publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi 24,246 a sumaryczna wartość punktów MNiSW - 545.** Udział Habilitantki w powstanie prac stanowiących Jej osiągnięcie naukowe jest odpowiednio znaczący. W pięciu z sześciu prac oryginalnych były to: tworzenie lub współtworzenie koncepcji pracy, planowanie i wykonanie części eksperymentalnej, analiza i dyskusja wyników oraz udział w pisaniu manuskryptu. W pracy eksperymentalnej H5 Habilitantka nie uczestniczyła w opracowaniu koncepcji pracy, jednak wykonała badania eksperymentalne, opracowała wyniki i jest Autorką ostatecznej wersji manuskryptu. W sześciu z ośmiu przedstawionych prac Pani doktor Karolina Słoczyńska jest pierwszym oraz korespondencyjnym Autorem, w jednej pierwszym lecz nie korespondencyjnym oraz w jednej trzecim oraz korespondencyjnym Autorem. Współautorzy prac poświadczili swój udział odpowiednimi oświadczeniami.

Obszarem badań stanowiących podstawę habilitacji dr Karoliny Słoczyńskiej były alternatywne metody oceny bezpieczeństwa nowych substancji o zdefiniowanej aktywności biologicznej, o działaniu możliwym do wykorzystania w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym.

Od rozpoczęcia badań nad nowym środkiem leczniczym do wprowadzenia go na rynek upływa zazwyczaj kilkanaście lat. Ten wymagający ogromnego nakładu pracy, czasu oraz środków finansowych proces wiąże się przede wszystkim z potwierdzeniem oczekiwanego efektu terapeutycznego, minimalnego ryzyka związanego z leczeniem oraz odpowiedniej dostępności biologicznej substancji. Zanim substancja lecznicza podana zostanie ludziom, musi

przejsz szereg testów przedklinicznych, m.in. z udziałem zwierząt. Uzasadnione wykorzystanie zwierząt w nauce jest akceptowalne, jednak względy etyczne i związane z nimi coraz bardziej świadome podejście do badań eksperymentalnych, znacząco zmniejszyły zjawisko bezrefleksyjnego wykorzystania zwierząt. Wprowadzona zasada 3R, mająca chronić praw i interesów zwierząt, przyczyniła się do rozwoju nauki i nowych biotechnologii, które umożliwiają przeprowadzenie szeregu testów poza organizmem zwierzęcia.

Celem badań przeprowadzonych przez Habilitantkę był dobór i optymalizacja testów alternatywnych oceniających bezpieczeństwo i/bądź metabolizm wybranych, nowych związków, tj. aminoalkanolowych pochodnych ksantonu oraz trans-2-aminocykloheksan-1-olu o potwierdzonym działaniu przeciwdrgawkowym, pochodnych 1-(2-metoksyfenylo)piperazyny o aktywności przeciwdepresyjnej, arylosulfonamidowej pochodnej aryloksyalkilamin o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu zaburzeń afektywnych, a także pochodnych hydantoiny wykazujących aktywność fotoprotekcyjną, możliwą do wykorzystania w przemyśle farmaceutycznym.

Badania zaprezentowane w **pracy H1** wskazują na brak efektu mutagennego w teście *Vibrio harveyi* czterech aminoalkanolowych pochodnych ksantonu o działaniu przeciwdrgawkowym. Dodatkowo, dwie pochodne, tj. związek III i IV odznaczały się działaniem antymutagennym, wynikającym z bezpośredniego efektu ochronnego wobec DNA.

Publikacja H2 ma charakter przeglądowy i stanowi cenne uzupełnienie prowadzonych prac eksperymentalnych, gdzie Habilitantka zaprezentowała się jako ekspert w obszarze prowadzonej przez siebie działalności naukowej. Zgłębiła zagadnienia związane z potencjalnymi mechanizmami działania antymutagenów oraz przedstawiła metody i narzędzia badawcze wykorzystywane w ocenie działania mutagennego oraz aktywności antymutagennej. Przegląd pozycji piśmiennictwa naukowego oraz wnikliwe opracowanie zagadnień w treści publikacji H2 zaowocowały kolejnymi pracami eksperymentalnymi, którym celem była właśnie ocena aktywności antymutagennej 4-podstawnych pochodnych 1-(2-metoksyfenylo)piperazyny o aktywności przeciwdepresyjnej (**H3**) oraz N-aminoalkilolowych pochodnych trans-2-aminocykloheksan-1-olu o aktywności (**H5**) przeciwdrgawkowej.

W pracy opisanej jako **H3** zaprezentowano wyniki badań nad działaniem mutagennym, antymutagennym, antyoksydacyjnym oraz nad biotransformacją sześciu pochodnych, z których każda wykazywała działanie antymutagenne, najsilniejsze w przypadku związku 1. Zaobserwowano, że pochodne posiadające łącznik 1,3-propylowy między grupą fenoksyłową a N-(2-metoksyfenylo)piperazyną posiadają większą aktywność antymutagenną niż pochodne zawierające łącznik etoksyetylowy. Jednocześnie badane związki charakteryzowały się niską

zdolnością do eliminacji syntetycznego rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl). Pozwoliło to wykluczyć działanie antyoksydacyjne jako prawdopodobny mechanizm aktywności antymutagennej. Jednocześnie przeanalizowano biotransformację badanych związków metodami *in vitro*, tj. z wykorzystaniem modelu mysich mikrosomów wątrobowych a także analiz *in silico*, co stanowiło cenny wkład w przewidywanie właściwości farmakokinetycznych potencjalnych leków.

W publikacji H4 habilitantka opisała badania *in vitro* nad biotransformacją pochodnej benzenosulfonamidowej, nowego antagonisty receptora 5-HT₇, zaprojektowanego i zsyntezowanego w Katedrze Chemii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego UJ CM, wykazującego aktywność przeciwdepresyjną i przeciwłękową. Wykorzystano tu model mikrosomalny, mikrobiologiczny oraz analizę *in silico*. Zidentyfikowano główny metabolit substancji - produkt hydroksylacji pierścienia fenylogowego, a analiza *in silico* potwierdziła dane uzyskane w warunkach *in vitro*, gdzie trzy wysymulowane metabolity zostały zidentyfikowane w modelu mikrosomalnym.

Publikacja H5 opisuje badania nad bezpieczeństwem nowo zsyntezowanych pochodnych trans-2-aminocykloheksan-1-olu o aktywności przeciwdrgawkowej, które objęły analizę cytotoksyczności, hepatotoksyczności, mutagenności oraz interakcji z glikoproteiną P. W ramach prowadzonego projektu wykazano bezpieczeństwo badanych związków oraz wskazano, iż wydają się one być obiecującymi kandydatami w badaniach nad rozwojem nowych leków o aktywności przeciwdrgawkowej

Prace H6 oraz H8 dotyczyły bezpieczeństwa i biotransformacji pochodnych hydantoiny o aktywności fotoprotekcyjnej, potencjalnych surowców kosmetycznych. Wskazano, iż badane związki JH3 i JH10 z uwagi na brak działania drażniącego i fototoksycznego względem tkanki skórnej oraz brak potencjału genotoksycznego można uznać za potencjalnych kandydatów do dalszych badań, których celem jest opracowanie skutecznych i bezpiecznych filtrów UV.

Zdobyte przez Panią doktor Karolinę Słoczyńską w trakcie eksperymentów *in vitro* opisanych w pracach H3-H6 doświadczenie i wiedza z zakresu badań nad biotransformacją związków zaowocowały **publikacją przeglądową H7**, gdzie habilitantka opisała znaczenie badań stabilności metabolicznej w pracach nad powstaniem nowych leków oraz metody jej analizy.

Podsumowując, publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego Pani dr Karolinie Słoczyńskiej, jednoznacznie stwierdzam, iż są one nowatorskie i stanowią cykl powiązanych tematycznie artykułów, co jest zgodne z art. 219 ust.1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Dokonany przez Habilitantkę wybór tematyki badawczej jest niezwykle istotny i aktualny. Zasada 3R (Replacement, Reduction, Refinement), dotycząca prowadzenia odpowiedzialnych i humanitarnych badań *in vivo*, została przyjęta pod postacią stosownej dyrektywy przez Parlament Europejski, a w Polsce wprowadzona mocą ustawy o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych i edukacyjnych (Dz.U. 2015, z 26 lutego 2015 r. poz. 266). Kładzie ona ogromny nacisk na rozwój i zastosowanie metod, które pozwalają zastąpić zwierzęta w badaniach (replacement). Jednocześnie obserwuje się wzrost wymagań stawianych przez agencje lekowe, takie jak FDA czy EMEA, a dotyczących procedur badawczych, jak również jakości nowych produktów leczniczych, m.in. oceny ich mutagenności czy kancerogenności. Zastosowanie modelowania komputerowego *in silico* w badaniach nad bezpieczeństwem nowych leków umożliwia przewidywanie właściwości cząsteczki jeszcze przed jej zsyntetyzowaniem.

Opisany trend dotyczący przedklinicznych badań nad nowymi lekami doprowadził do rozwoju w dziedzinie alternatywnych do badań *in vivo* testów *in vitro*, pozwalających na ocenę toksyczności potencjalnych nowych leków, a podstawą ich szerszego zastosowania jest odpowiednia walidacja procedur, co stanowi tematykę przedstawionego cyklu habilitacyjnego. Efektem prac Pani dr Karoliny Słoczyńskiej jest optymalizacja metod alternatywnych umożliwiających ocenę działania mutagennego i antymutagennego nowo zsyntetyzowanych związków o potencjalnym działaniu przeciwlękowym, przeciwdepresyjnym i przeciwdrgawkowym. Habilitantka dostosowała również alternatywne metody oceny struktur powstających metabolitów nowych związków, a także poddała ocenie ich stabilność metaboliczną, co stanowi podłoże do przewidywania właściwości farmakokinetycznych leków. Obszarem swoich zainteresowań Habilitantka objęła również nowe związki, możliwe do zastosowania w kosmetyce, gdzie oceniła działanie fototoksyczne i drażniące, a także oprzenikanie przez naskórek nowych pochodnych hydantoiny wykazujących aktywność fotoprotekcyjną. Tematyka prac jest więc aktualna i posiada duże walory poznawcze oraz aplikacyjne.

Aktywność naukowa poza cyklem habilitacyjnym oraz aktywność dydaktyczna i organizacyjna

Na uwagę zasługuje wysoka aktywność Habilitantki w pracach naukowych poza cyklem habilitacyjnym. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, Pani doktor była współautorką 37 prac o łącznej wartości wskaźnika IF wynoszącej 104,648 i punktacji MNiSW – 1652. Dane uzyskane na podstawie Bibliografii UJ CM oraz Web of Science Core

Collection i Journal Citation Reports z dnia 16.02.2023 r. wskazują (Załącznik 7, Analiza bibliometryczna), iż **całkowita liczba cytowań bez autocytowań to 550, a współczynnik Hirscha - 14**. Habilitantka, po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, prezentowała wyniki 11 prac badawczych na konferencjach naukowych oraz była Współautorką 29 komunikatów konferencyjnych.

Pani dr Karolina Słoczyńska wykazuje się dwoma odbytymi stażami (załącznik 4, str. 26), tj. przed uzyskaniem stopnia doktora krajowy, potwierdzony zaświadczeniem staż naukowy w Katedrze Rehabilitacji Klinicznej Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie. Był to staż trwający 15 miesięcy, gdzie Kandydatka 2-3 razy w tygodniu przebywała w wymienionym ośrodku, a jego owocem był cykl publikacji dotyczący testowania *in vitro* wpływu różnych czynników na właściwości biochemiczne i reologiczne ludzkich krwinek czerwonych. Po uzyskaniu stopnia doktora, odbyła w 2019 roku czterodniowy staż o charakterze dydaktycznym, tj. w Mendel University in Brno, Faculty of AgriSciences, Department of Chemistry and Biochemistry, Brno, Czechy, w ramach programu ERASMUS+ Mobilność z Krajami Programu (KA 103).

Habilitantka zapoczątkowała w 2022 roku współpracę naukową z dr Ivana Eichlerova z Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Praga, Czechy, która realizowana jest w ramach projektu pt. „Bioremediacja zanieczyszczeń wody wywołanych lekami i kosmetykami przez grzyby *Cunninghamella* - biotechnologiczna strategia oczyszczania środowiska”. **Na projekt ten Pani dr Karolina Słoczyńska zdobyła jako kierownik finansowanie Narodowego Centrum nauki na projekt w ramach grantu OPUS (nr 2020/37/B/NZ7/02546).** Poza wymienionym ośrodkiem naukowym w Czechach, Habilitantka nawiązała współpracę z ośrodkami krajowymi, czego efektem jest wysoki dorobek naukowy. W 2019 roku podczas tygodniowego stażu dydaktycznego w ramach programu ERASMUS+, Habilitantka wygłosiła cykl wykładów naukowych dotyczących realizowanych prac naukowo-badawczych w Mendel University in Brno, Faculty of AgriSciences, Department of Chemistry and Biochemistry, Brno, Czechy. Aktualnie jest również **wykonawcą w projekcie „Innowacyjny produkt kosmetyczny wspomagający terapię przebarwień u ludzi” (nr LIDER/26/0094/L-11/19/NCBR/2020),** finansowanym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, w ramach programu LIDER XI. Doktor Karolina Słoczyńska **była wykonawcą** w ukończonych już projektach, tj. „Nowoczesna fotoprotekcja – opracowanie skutecznych i bezpiecznych filtrów UV w grupach pochodnych aryliidenohydantoiny i kwasu cynamonowego” (**konkurs OPUS nr 2016/21/B/NZ7/01756**), „Biomimetyki LCAP - pochodne amin alicyklicznych jako nowa klasa ligandów dla receptorów monoaminergicznych

(konkurs OPUS nr 2012/05/B/NZ7/03076) oraz projektu „Opracowanie innowacyjnej grupy związków o aktywności stabilizującej potencjał błony komórkowej”, o numerze **POIG.01.01.02-12-012/09-00**, w ramach **Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka**. W wykazie uzyskanych praw własności przemysłowej (załącznik 4, Punkt III, podpunkt 2) wskazuje na jeden uzyskany i dwa zgłoszone patenty.

Obserwując przebieg dotychczasowej aktywności i zdolności do inicjowania i prowadzenia projektów naukowych Pani dr Karoliny Słoczyńskiej oraz biorąc pod uwagę realizowany obecnie grant naukowy OPUS, można spodziewać się, iż mobilność naukowa Kandydatki oraz współpraca międzynarodowa będzie zataczać coraz szersze kręgi.

Pani dr Karolina Słoczyńska wykazuje się również **istotną aktywnością dydaktyczną i organizacyjną**. Prowadzi m.in. zajęcia na kierunku farmacja oraz kosmetologia, a także jest Współautorką podręcznika „Chemia organiczna w laboratorium dla studentów analityki medycznej”. Praca zbiorowa pod redakcją H. Marony, Wydawnictwo ZOZ Ośrodek UMEA SHINODA-KURACEJO, Kraków, 2016 (ISBN 978-83-936591-6-6). Pełniła **funkcję promotora pomocniczego** pracy doktorskiej Pani dr Beaty Powroźnik (promotor Pani Prof. Elżbieta Pękała). Prowadzi opiekę nad stypendystami w kierowanym projekcie OPUS oraz opracowała ćwiczenia komputerowe i laboratoryjne z przedmiotu Chemia surowców kosmetycznych dla studentów I roku uzupełniających studiów magisterskich na kierunku Kosmetologia na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM. W roku 2020 Habilitantka uzyskała Zespołową Nagrodę Rektora Uniwersytetu Jagiellońskiego za osiągnięcia organizacyjne – III stopnia. Dr Karolina Słoczyńska aktywnie doskonali swój warsztat naukowo – dydaktyczny przez udział w kursach i warsztatach dotyczących prowadzonej działalności a także jest recenzentem prac w czasopismach naukowych znajdujących się w bazie JCR. Była Członkiem Jury Sesji Farmaceutycznej podczas 30th International Medical Students Conference Cracow 2022, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, w maju 2022 r. oraz Członkiem Komitetu Organizacyjnego Konferencji Nowoczesna Kosmetologia - od Nauki do Biznesu, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, w maju 2016 r.

Jeśli chodzi o uwagi do załączonej dokumentacji, na stronie 13 Autoreferatu, Habilitantka nazwała metabolity leku związkami „potomnymi”, właściwszym sformułowaniem w mojej opinii byłyby „pochodne”. Warto tu też dodać, iż bardzo wysoka wartość klirensu i ultraszybki czas eliminacji, a w związku z tym bardzo krótki czas przebywania leku w organizmie bywa często ogromną zaletą. Takie losy substancji w ustroju warunkują bowiem

sterowność jego podaży, co w wielu sytuacjach jest bardzo korzystne. Przykładem może być zastosowanie remifentanylu w chirurgii jednego dnia, czy też leczenie napadu astmy oskrzelowej beta2 mimetykami krótkodziałającymi. W Autoreferacie, w rozdziale poświęconym dyskusji, brakuje zestawienia osiągnięć związanych z opracowaniem metod alternatywnych z osiągnięciami innych autorów w tym obszarze. W mojej opinii, chociaż cykl nie dotyczy bezpośrednio działania farmakologicznego wybranych związków, cenne byłoby uzasadnienie wyboru badanych kandydatów na leki i wskazanie ich miejsca w aktualnej farmakoterapii chorób, w leczeniu których mogą być potencjalnie zastosowane. Umieściłoby to analizowane związku we współczesnym nurcie farmakoterapii. Wymienione uwagi w żaden jednak sposób nie umniejszą wartości naukowej przedstawionego do recenzji cyklu habilitacyjnego.

Reasumując, przedłożona dokumentacja jednoznacznie wskazuje, iż Kandydatka, zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, spełnia wszystkie wymogi stawiane osobom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego. Zaprezentowane osiągnięcie naukowe stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki farmaceutyczne, a wysoki dorobek naukowy Habilitantki oraz jej wysoka aktywność naukowa predysponują dr Karolinę Słoczyńską do kontynuowania kariery naukowej w charakterze samodzielnego pracownika naukowego.

Prof. dr hab. Agnieszka Bienert