



OCENA

dorobku naukowo-badawczego, dydaktyczno-organizacyjnego i rozprawy habilitacyjnej dr nauk farmaceutycznych Urszuli Hubickiej, adiunkta w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, wykonana na zlecenie Centralnej Komisji, w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych.

I. Informacje biograficzne

Dr n. farm. Urszula Hubicka ukończyła studia na kierunku Analityka Medyczna na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Natomiast stopień doktora nauk farmaceutycznych w zakresie analizy leków otrzymała w 2006 roku na podstawie decyzji Rady Wydziału Farmaceutycznego CMUJ w Krakowie, po przedstawieniu rozprawy doktorskiej pt. „Ocena stabilności wybranych leków z grupy chinolonów, z uwzględnieniem ich interakcji z metalami”. Wieloletnia aktywność naukowa i zawodowa dr U. Hubickiej, związana jest głównie z Zakładem Chemii Analitycznej Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego CMUJ, w którym rozpoczęła pracę w 1999 roku na stanowisku asystenta, a od 2007 roku pracuje na stanowisku adiunkta.

II. Ocena dorobku naukowo-badawczego

Dr U. Hubicka jest współautorem 33 prac naukowych oryginalnych ze wskaźnikiem IF, 1 pracy pogładowej, 3 rozdziałów w podręcznikach (w tym 2 międzynarodowych oraz 1 krajowego), a także 3 prac popularno-naukowych. Na dorobek naukowy Habilitantki składają się także 22 streszczenia konferencyjne ze zjazdów – w tym 3 międzynarodowych i 19 krajowych. Sumaryczna punktacja dorobku naukowego wyrażona wskaźnikiem Impact Factor wynosi **36,487**, (547 pkt. MNiSW). Liczba cytowań wg stanu na 30.07.2014 wynosi 105; współczynnik Hirscha wg bazy Web of Science Core Collection wynosi 6.

Z dorobku naukowego wyodrębniono jako osiągnięcie naukowe 6 prac posiadających sumaryczną wartość współczynnika $IF=9,738$, co przekłada się na 125 pkt. MNiSW. Wskazane publikacje ukazały się w latach 2012-2014 i zostały opublikowane w czasopiśmie JCR tj. w Photochem. Photobiol. Sci., Anal. Methods (2 prace), Chem. Central J., J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. (2 prace). Natomiast łączna liczba publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi 28, w tym 27 oryginalnych prac pełnotekstowych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, o sumarycznej wartości $IF = 26,749$, co przekłada się na 422 punkty MNiSW. Ponadto wyniki prowadzonych badań zaprezentowane zostały na konferencjach i sympozjach naukowych, w tym 19 krajowych i 3 zagranicznych.

Główny nurt zainteresowań naukowych dr U. Hubickiej obejmuje badania fotostabilności leków i substancji leczniczych, ze szczególnym uwzględnieniem chemioterapeutyków z

grupy fluorochinolonów, które to rozwija od momentu podjęcia pracy pod kierunkiem prof. Jana Krzeka.

W pracach zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe można wyróżnić kilka wątków badawczych (i) optymalizacja i walidacja metod rozdzielczych umożliwiających oznaczanie fluorochinolonów obok produktów rozkładu (ii) ocena kinetyczna fotodegradacji (iii) identyfikacja produktów rozkładu (iv) analiza oddziaływań fluorochinolonów z wybranymi jonami metali. Realizacji założonych zadań służyło doskonalenie warsztatu badawczego z wykorzystaniem metod rozdzielczych, ze szczególnym uwzględnieniem TLC, HPLC, UPLC oraz spektralnych $^1\text{H NMR}$ i LC-MS/MS.

Badania prowadzone po uzyskaniu stopnia doktora są zdecydowanie ukierunkowane i dotyczą oceny trwałości fotochemicznej, ocenianej zgodnie z wymaganiami Dokumentu ICH Q1B, zawierającego procedury postępowania zapewniające powtarzalność i wiarygodność przeprowadzanych analiz. Badania te mają istotne znaczenie na etapie otrzymywania, przechowywania i działania leków, ponieważ światło może wpływać niekorzystnie zarówno na substancje czynne jak i pomocnicze, powodując niekorzystne zmiany fizykochemiczne oraz obniżenie aktywności terapeutycznej. Planując szeroki zakres badań dr U. Hubicka uwzględniła mechanizmy reakcji, identyfikację produktów rozkładu oraz kinetyczną charakterystykę zachodzących procesów. Należy podkreślić, że w porównaniu do wcześniejszych badań innych autorów, uzyskane wyniki wnoszą nowe rozwiązania.

Przeprowadzane badania obejmowały kolejno poszukiwanie, optymalizację i walidację metod umożliwiających ocenę kinetyczną i identyfikację produktów rozkładu fotochemicznego. Na tym etapie badań zainteresowania Habilitantki skupiły się na opracowaniu metod opartych na technikach chromatograficznych, takich jak TLC, HPLC oraz UPLC. Opracowane metody umożliwiły oznaczenie 7 fluorochinolonów obok produktów rozkładu, a mianowicie moksifloksacyny, sparfloksacyny, ciprofloksacyny, norfloksacyny, ofloksacyny, difloksacyny i danofloksacyny. Na tym etapie badań szczególną uwagę skupiono na optymalizacji metody TLC, testując fazy ruchome o różnym składzie (*H-I*, *H-II*, *H-IV* i *H-V*). Natomiast do wizualizacji chromatogramów wykorzystano metodę densytometryczną (*H-I*, *H-II*, *H-IV*). Program badań uwzględniał również ocenę fotostabilności fluorochinolonów w gotowych postaciach leków, a opracowana metoda z wykorzystaniem UPLC MS/MS umożliwiła oznaczenie produktów rozkładu moksifloksacyny, ciprofloksacyny, norfloksacyny i ofloksacyny w obecności masy tabletkowej (*H-III*). Ważnym osiągnięciem jest opracowanie metody HPLC, której zastosowanie umożliwiło potwierdzenie obecności aż 18 produktów rozkładu danofloksacyny, tj. większej liczby od podawanej w piśmiennictwie przez innych autorów (*H-VI*). Wszystkie metody stosowane do oznaczeń ilościowych zostały wcześniej odpowiednio zwalidowane, z uwzględnieniem takich parametrów jak selektywność, granica wykrywalności i oznaczalności, liniowość, precyzja, dokładność i odporność. Ponadto uzyskane wyniki empiryczne były weryfikowane z wykorzystaniem odpowiednich testów, co pozwoliło potwierdzić, że opracowane metody charakteryzowały się odpowiednią dokładnością i selektywnością i mogą być stosowane w rutynowych oznaczeniach fluorochinolonów, obok ich fotoproduktów.

Analiza ilościowa polegała na wyznaczeniu parametrów kinetycznych zachodzących procesów, tj. stałych szybkości rozkładu oraz czasu $t_{0,5}$ (*H-II*, *H-IV*, *H-V* i *H-VI*). Dla analizowanych związków określony został model kinetyczny fotodegradacji. Stwierdzono, że proces fotodegradacji zachodzi zgodnie z reakcją kinetyczną I-rzędu (*H-IV*, *H-V*, *H-IV*). Jednym z celów działalności naukowej Kandydatki było poszukiwanie metod, które mogą znaleźć zastosowanie w identyfikacji produktów rozkładu fotochemicznego fluorochinolonów. Z tego względu ważnym analizowanym zagadnieniem była identyfikacja produktów fotodegradacji, w badaniach których posłużono się metodami spektralnymi, tj.

magnetycznego rezonansu jądrowego oraz spektrometrii mas. Dla poszczególnych fluorochinolonów określono liczbę powstających fotoproduktów i wykazano, że w wyniku rozkładu moksifloksacyny powstają 3 produkty, a głównymi produktami rozkładu sparfloksacyny są cztery związki (*H-I*, *H-II*). Natomiast w odniesieniu do difloksacyny potwierdzono obecność trzech fotoproduktów, a ponadto stwierdzono, że w wyniku kompleksowania z jonami miedzi(II) trwałość związku zdecydowanie wzrasta (*H-IV*).

Fluorochinolony są ważną grupą chemioterapeutyków o szerokim zastosowaniu w medycynie, charakteryzują się wysoką efektywnością oraz korzystnymi parametrami farmakologicznymi. Jednak warunkiem aktywności farmakologicznej fluorochinolonów jest obecność wolnej grupy karboksylowej i karbonylowej, które jednocześnie łatwo tworzą połączenia chelatowe, szczególnie z kationami metali wielowartościowych. Zaobserwowano, że ze względu na możliwość kompleksowania podanie fluorochinolonów z lekami zawierającymi jony metali wielowartościowych np. preparatami z grupy antacida czy mineralno-witaminowymi, powoduje znaczne pogorszenie ich biodostępności. Ze względu na charakterystyczną budowę cząsteczki, procesowi kompleksowania z jonami metali ulegają wszystkie fluorochinolony w szerokim zakresie pH, natomiast siła tych połączeń jest zróżnicowana. Na przykład kationy glinu(III) charakteryzują się zdolnością do tworzenia stabilnych chelatów w zakresie pH = 3-5, a jony magnezu(II) w środowisku zasadowym przy pH ok. 8. Jednocześnie kationy metali wchodzi w skład wielu preparatów farmaceutycznych, w tym suplementów multimineralnych i witaminowych oraz, jak w przypadku jonów glinu(III) i magnezu(II), znajdują się w preparatach z grupy antacida. Z tego względu fluorochinolony są przyczyną licznych interakcji z jonami metali wielowartościowych, co przekłada się na zmniejszenie aktywności. Najsilniejsza niezgodność obserwowana jest dla norfloksacyny, a także ciprofloksacyny z jonami glinu(III), zmniejszając biodostępność nawet o 91%. Oddziaływania jonów glinu z fluorochinolonami, zostały również uwzględnione w badaniach zaplanowanych przez Habilitantkę. Ten rodzaj oddziaływań analizowano na przykładzie moksifloksacyny zarówno w roztworach, jak i w fazie stałej, a do śledzenia zachodzących zmian wykorzystano zwalidowane metody analityczne. Ponadto szczegółowo oceniono wpływ kompleksowania moksifloksacyny z jonami Cu(II), Fe(III) i Zn(II), na zdolność rozkładu tego fluorochinolonu. Stwierdzono, że fotodegradacja moksifloksacyny w roztworach zawierających jony metali zachodziła łatwiej niż bez udziału kompleksowania, a procent rozkładu związku zależał od rodzaju jonu i wynosił od 8,67-48,62% (*H-I*). Także rodzaj kationu wpływał na liczbę powstających fotoproduktów. Natomiast badania sparfloksacyny przeprowadzono w roztworach w obecności jonów Zn(II), stwierdzając znacznie wolniejszy proces rozkładu fotochemicznego w obecności kationów metalu (*H-II*). Analizę kolejnego fluorochinolonu - difloksacyny prowadzono wobec jonów miedzi i także obserwowano stabilizujący wpływ jonów metalu (*H-IV*). Program badań uwzględnił także porównanie trwałości fotochemicznej danofloksacyny w postaci roztworu i preparatu weterynaryjnego do wstrzykiwań, a kontynuację badań stanowiła ocena stabilności fluorochinolonu wobec jonów Cu(II) i Fe(III) (*H-VI*, *H-VI*).

Ocena fotostabilności substancji leczniczych i preparatów farmaceutycznych, stanowiła bardzo długo poważny problem z powodu braku jednolitych procedur, dotyczących analizowania wrażliwości leku na światło. Z tego względu podejmowane były starania zmierzające do opracowania testu przyspieszonej fototrwałości, który w prosty sposób określałby, czy lek lub substancja lecznicza są trwałe w przyjętym modelu ekspozycji na światło. Obecnie obowiązuje procedura zawarta w przewodniku ICH, w którym zawarto odpowiednie zalecenia, zapewniające powtarzalność i wiarygodność przeprowadzanych analiz. Przewodnik ten podaje ujednolicone wskazówki, odnośnie rodzajów stosowanych źródeł i sposobów pomiaru dawki promieniowania, ilości substancji leczniczej poddawanej analizie, jak również warunków ekspozycji na światło. Podano w nim także, wskazówki

dotyczące sposobu interpretacji wyników. W tym miejscu należy podkreślić, że Habilitantka planując prowadzenie badań uwzględniła obowiązujące wymagania, wykorzystywała odpowiednie komory klimatyczne, a także kontrolowała natężenia promieniowania stosując jako aktynometrię fizyczne odpowiednie radiometrię.

Zmiany powodowane przez światło mogą zachodzić zarówno na etapie produkcji leków, przy przechowywaniu, a także po podaniu do ustroju. Z tego względu odpowiednie badania odporności leków na działanie światła, mają ogromne znaczenie dla projektowania produkcji, przechowywania i działania leków. Wyniki takich badań pozwalają na wyciągnięcie odpowiednich wniosków, zastosowania odpowiednich opakowań i zabezpieczeń, a tym samym zwiększenia trwałości produktu leczniczego i bezpieczeństwa terapii. W przypadku leków, fotoliza może dotyczyć związków czynnych oraz substancji pomocniczych obecnych w preparatach farmaceutycznych. Habilitantka również uwzględniła te aspekty przeprowadzając badania trwałości fotochemicznej ciprofloksacyny, moksifloksacyny, norfloksacyny i ofloksacyny w fazie stałej w sproszkowanej masie tabletkowej (*H-III*). Jest to problem istotny ponieważ w przypadku tabletek, jako substancje pomocnicze często są wykorzystywane aktywne fotochemicznie tlenki tytanu i żelaza. Uzyskane wyniki stanowią znaczący wkład w rozwój analizy i technologii farmaceutycznej, stanowią uzupełnienie tego kierunku badań, a ponadto mają duże znaczenie praktyczne. Realizując trudny temat badawczy dr U. Hubicka wykorzystywała specjalistyczne techniki analizy instrumentalnej, wykazując się przy tym nie tylko dobrą znajomością zagadnień teoretycznych, ale także umiejętnością praktycznego zastosowania.

Opublikowane prace oryginalne stanowiące osiągnięcie naukowe, są efektem pracy zespołowej. W publikacjach związanych z tematyką fotodegradacji fluorochinolonów, Habilitantka pełniła kluczową rolę, zarówno w opracowaniu koncepcji badań jak i interpretacji uzyskanych wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu. Określone w wykazie prac udziały autorskie Kandydatki w kilku osobowych zespołach autorskich są znaczące i dotyczą najczęściej koncepcji pracy, interpretacji wyników oraz przygotowania publikacji. Publikacje dr U. Hubickiej ukazały się w czasopismach farmaceutycznych i analitycznych o zasięgu światowym, zamieszczającym jedynie prace recenzowane.

Na podkreślenie zasługuje fakt pozyskania dwóch projektów badawczych na wspieranie prowadzonych badań z funduszy Unii Europejskiej oraz KBN. W obu projektach Habilitantka była wykonawcą, kierowała także 4 projektami finansowanymi przez CMUJ. Działalność naukowa była dwukrotnie nagradzana nagrodą zespołową Dziekana Wydziału Farmaceutycznego CMUJ.

Badania dr U. Hubickiej znalazły uznanie nie tylko w publikacjach naukowych, ale także mają znaczenie praktyczne w technologii wytwarzania produktów leczniczych oraz ich kontroli. Wymiernym tego dowodem jest udział w 9 projektach zamawianych związanych z opracowaniem i walidacją metod wykorzystywanych do oznaczania substancji leczniczych oraz oceną trwałości fotochemicznej handlowych preparatów farmaceutycznych, wykonanych na zlecenie przedsiębiorstw farmaceutycznych. Między innymi wiedza i doświadczenie analityczne dr U. Hubickiej zaowocowało współpracą z Polfa Rzeszów S.A., polegającą na opracowaniu i walidacji metod oznaczania substancji leczniczych w preparatacie (Tolperison) oraz wykonywaniu ekspertyz dotyczących oceny fotostabilności (fenoksyetanol). Podkreślić należy także umiejętność Habilitantki do nawiązywania kontaktów naukowych i pracy zespołowej, która zaowocowała wspólnymi publikacjami m.in. z Katedrą Farmakognozji, Chemii Farmaceutycznej oraz Zakładem Chemii Bioorganicznej macierzystej Uczelni. Ponadto dr U. Hubicka już od kilku lat efektywnie współpracuje z Wydziałem Farmakopei Polskiej, a wymiernym efektem tej kooperacji jest opracowanie 44 monografii szczegółowych, 2 ogólnych, a także nowelizacja 86 monografii szczegółowych.

Drugi nurt działalności dr U. Hubickiej na uczelni związany jest z dydaktyką. Od początku kariery zawodowej dr U. Hubicka uczestniczy w procesie dydaktycznym realizowanym w macierzystej Katedrze, prowadząc zajęcia z chemii ogólnej i nieorganicznej dla studentów I roku kierunku farmacja, a także z analizy ilościowej i instrumentalnej dla studentów II roku kierunku farmacja i analityka medyczna. Zakres obowiązków dydaktycznych Habilitantki obejmuje również prowadzenie ćwiczeń z analizy instrumentalnej dla studentów kosmetologii. Prowadzone zajęcia obejmują różne formy działalności dydaktycznej tj. ćwiczenia, seminaria i zajęcia fakultatywne, a także wykłady na studiach podyplomowych. Pod kierownictwem/opieką dr U. Hubickiej wykonano łącznie 32 prace magisterskie. Ponadto Habilitantka pełniła obowiązki opiekuna naukowego 2 prac doktorskich, których promotorem był prof. Jan Krzek. Osiągnięcia dydaktyczne, wykraczające poza zwyczajowe obowiązki dydaktyczne, znalazły uznanie studentów wyrażone przyznaniem dr U. Hubickiej wyróżnienia „najlepiej oceniony dydaktyk CMUJ w 2014 roku”. Wymiernym uznaniem działalności dydaktycznej dr U. Hubickiej są także liczne nagrody dydaktyczne Dziekana Wydziału. Uzyskane nagrody i wyróżnienia dowodzą, że z obowiązków tych Habilitantka wywiązuje się znakomicie i potrafi dzielić się własnym doświadczeniem badawczym i dydaktycznym ze studentami.

III. Wniosek końcowy

Osiągnięcie naukowe pt. „Badania fotodegradacji wybranych fluorochinolonów w roztworach i/lub fazie stałej oraz ustalenie mechanizmu zachodzących przemian i struktury produktów rozkładu”, stanowi 6 prac doświadczalnych o łącznym współczynniku oddziaływania 9,738. We wszystkich pracach stanowiących osiągnięcie naukowe dr U. Hubicka jest pierwszym autorem. Wszystkie opublikowane w latach 2012-2014 prace są efektem badań zespołowych. Jednak w pracach wchodzących w zakres rozprawy habilitacyjnej widać wyraźną dominację Kandydatki, która nie tylko przedstawia koncepcję badań, współuczestniczy w opracowaniu metodyki i wyników badań, ale w zdecydowanej większości przypadków sama redaguje manuskrypty.

Przedstawione badania stanowią oryginalny i twórczy wkład do wiedzy dotyczącej grupy fluorochinolonów, ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływań z kationami metali. Badania zawarte w publikacjach będących osiągnięciem naukowym przeprowadzono przy wykorzystaniu nowoczesnych technik chemii analitycznej. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt umiejętnego powiązania przez dr U. Hubicką doświadczeń zdobytych w pracy naukowej, z działalnością na rzecz podmiotów gospodarczych, w zakresie wykorzystania nowoczesnych rozwiązań przy ocenie fotostabilności fluorochinolonów, a także przy ocenie czystości produktów farmaceutycznych.

Podsumowując całokształt działalności dr U. Hubickiej stwierdzam, że Kandydatka legitymuje się odpowiednimi osiągnięciami, zarówno w pracy naukowo-badawczej jak i dydaktyczno-organizacyjnej. Od uzyskania stopnia doktora powiększyła swój dorobek naukowy o wartościowe, liczące się w piśmiennictwie naukowym prace. Konsekwentnie rozwija temat badawczy dotyczący trwałości fotochemicznej substancji leczniczych. Jest także doświadczonym nauczycielem akademickim.

Na podstawie przedłożonej dokumentacji stwierdzam, że dr U. Hubicka spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego i składam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego CMUJ w Krakowie o dopuszczenie dr Urszuli Hubickiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

/Prof. dr hab. Jadwiga Mielcarek/

