

AUTOREFERAT

Załącznik 2

do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

„Nanocząstki lipidowe jako skuteczne nośniki substancji
aktywnych w leczeniu chorób nowotworowych”

Dr Aleksandra Zielińska



Poznań 2021

1. Imię i nazwisko

Aleksandra Zielińska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

07.12.2019 Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Collegium Stomatologicum
Studium Podyplomowe Badań Klinicznych i Biomedycznych Badań Naukowych

21.12.2018 **Doktor nauk chemicznych**
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii
Tytuł pracy doktorskiej:
„Synteza i charakterystyka stałych nanocząstek oraz nanostrukturalnych nośników lipidowych przeznaczonych do celów kosmetycznych i farmaceutycznych”
Promotor: prof. dr hab. Izabela Nowak
Praca doktorska została wyróżniona przez recenzentów.

11.06.2013 **Magister chemii**
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii
Tytuł pracy magisterskiej:
„Hyaluronic acid as a facial filler for men – rheology study and skin efficiency estimation in in vivo tests”
Promotor: prof. dr hab. Izabela Nowak
Praca doktorska została napisana w języku angielskim.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

04.06.2020 – obecnie Adiunkt, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Zakład Funkcji Kwasów Nukleinowych
[\(http://igcz.poznan.pl/pracownik/aleksandra-zielinska/\)](http://igcz.poznan.pl/pracownik/aleksandra-zielinska/)

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

„Nanocząstki lipidowe jako skuteczne nośniki substancji aktywnych w leczeniu chorób nowotworowych”

4.2 Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia

Osiągnięcie zostało udokumentowane **sześcioma** recenzowanymi pracami, opublikowanymi w latach 2018-2021 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Łączna wartość bibliometryczna przedstawionych publikacji wynosi: *Impact Factor* (IF) **27,388** oraz **660** punktów ministerialnych.

[H1] **Aleksandra Zielińska**, Carlos Martins-Gomes, Nuno R. Ferreira, Amélia M. Silva, Izabela Nowak, Eliana B. Souto. Anti-inflammatory and anti-cancer activity of citral: Optimization of citral-loaded solid lipid nanoparticles (SLN) using experimental factorial design and *LUMiSizer*. *International Journal of Pharmaceutics* **2018**, Vol. 553 (1-2), s. 428-440.

Praca oryginalna; doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.10.065 [IF 4,213; Pkt. Min. 100]

Mój udział w powstaniu tej publikacji polegał na: zaproponowaniu koncepcji badań, samodzielnym opracowaniu metodologii enkapsulacji cytralu i geraniolu w nanocząstki lipidowe, dokonaniu analizy statystycznej, samodzielnym przeprowadzeniu syntezy oraz charakterystyki fizykochemicznej otrzymanych produktów, przygotowaniu próbek do analizy za pomocą LUMISizera, współuczestniczeniu w badaniach oznaczania aktywności przeciwwzapalnej monoterpenów oraz testach cytotoksyczności, interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu danych oraz zredagowaniu publikacji.

[H2] Irina Pereira, **Aleksandra Zielińska**, Nuno R. Ferreira, Amélia M. Silva, Eliana B. Souto. Optimization of linalool-loaded solid lipid nanoparticles using experimental factorial design and long-term stability studies with a new centrifugal sedimentation method. *International Journal of Pharmaceutics* **2018**, Vol. 549 (1-2), s. 261-270.

Praca oryginalna; doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.07.068 [IF 4,213; Pkt. Min. 100]

Mój udział w powstaniu tej publikacji polegał na: pomyśle i zaproponowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodologii enkapsulacji linalolu w stałe nanocząstki lipidowe, dokonaniu analizy statystycznej, pomocy w przeprowadzeniu syntezy oraz charakterystyki fizykochemicznej otrzymanych produktów, wykonaniu analizy stabilności i oceny cytotoksyczności nanocząstek oraz czynnym udziale w opracowaniu otrzymanych wyników i pisaniu manuskryptu.

- [H3] **Aleksandra Zielińska**, Nuno R. Ferreira, Alessandra Durazzo, Massimo Lucarini, Nicola Cicero, Soukaina E. Mamouni, Amélia M. Silva, Izabela Nowak, Antonello Santini, Eliana B. Souto. Development and Optimization of Alpha-Pinene-Loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Using Experimental Factorial Design and Dispersion Analysis. *Molecules* **2019**, Vol. 24, nr 15, art. 2683, s. 1-17.

Praca oryginalna; doi: 10.3390/molecules24152683 [IF 3,267; Pkt. Min. 140]

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: pomyśle i zaproponowaniu koncepcji badań, dokonaniu selekcji lipidów, samodzielnym opracowaniu metodologii enkapsulacji alfa-pinenu w stałe nanocząstki lipidowe, dokonaniu analizy statystycznej, samodzielnym przeprowadzeniu syntezy oraz charakterystyki fizykochemicznej otrzymanych produktów, przygotowaniu próbek do analizy za pomocą LUMISizera oraz dokonaniu analizy uzyskanych wyników, opracowaniu danych i zredagowaniu publikacji.

- [H4] **Aleksandra Zielińska**, Nuno R. Ferreira, Agnieszka Feliczak-Guzik, Izabela Nowak, Eliana B. Souto. Loading, release kinetics and stability assessment of monoterpenes - loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *Pharmaceutical Development and Technology* **2020**, Vol. 25, nr 7, s. 832-844.

Praca oryginalna; doi: 10.1080/10837450.2020.1744008 [IF 3,133; Pkt. Min. 40]

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: pomyśle i zaproponowaniu koncepcji badań, dokonaniu selekcji lipidów, samodzielnym opracowaniu metodologii enkapsulacji wybranych monoterpenu w nanocząstki lipidowe, dokonaniu analizy statystycznej, przeprowadzeniu syntezy oraz dogłębnej charakterystyki fizykochemicznej wszystkich otrzymanych produktów, przygotowaniu próbek do analizy za pomocą LUMISizera, przeprowadzeniu badań uwalniania za pomocą komór dyfuzyjnych Franza, przygotowaniu próbek do analiz spektrofotometrycznych, przeprowadzeniu procesu liofilizacji nanocząstek, dokonaniu analizy uzyskanych wyników, opracowaniu danych i zredagowaniu publikacji.

- [H5] Eliana B. Souto, **Aleksandra Zielińska**, Selma B. Souto, Alessandra Durazzo, Massimo Lucarini, Antonello Santini, Amélia M. Silva, Atanas G. Atanasov, Conrado Marques, Luciana N. Andrade, Patricia Severino. (+)-Limonene 1,2-Epoxyde-Loaded SLNs: Evaluation of Drug Release, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity in an HaCaT Cell Line. *International Journal of Molecular Sciences* **2020**, Vol. 21, nr 4, art. 1449, s. 1-11.

Praca oryginalna; doi: 10.3390/ijms21041449 [IF 5,923; Pkt. Min. 140]

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: zaproponowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodologii inkorporacji epoksydu limonenu do nanocząstek lipidowych, dokonaniu walidacji metody, przeprowadzeniu syntezy nanocząstek, przeprowadzeniu badań uwalniania, pomoc w ocenie właściwości przeciwzapalnych

i cytotoksycznych na wybranych liniach komórkowych, dokonaniu analizy uzyskanych wyników, opracowaniu otrzymanych wyników i pisaniu manuskryptu.

[H6] **Aleksandra Zielińska***, Marlena Szalata, Adam Gorczyński, Jacek Karczewski, Piotr Eder, Patrícia Severino, José M. Cabeda, Eliana B. Souto, Ryszard Słomski. Cancer Nanopharmaceuticals: Physicochemical Characterization and In Vitro/In Vivo Applications. *Cancers* **2021**, Vol. 13, nr 8, art. 1896, s. 1-38.

Praca przeglądowa; doi: 10.3390/cancers13081896 [IF 6,639; Pkt. Min. 140]

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: zaproponowaniu koncepcji artykułu przeglądowego, dogłębnym przeglądzie literatury naukowej, wyselekcjonowaniu i zebraniu pozycji literaturowych, podziale artykułu na sekcje tematyczne, przygotowaniu i napisaniu części tekstowej oraz graficznej pracy, edycji manuskryptu, naniesieniu poprawek edytorskich oraz na polemice z recenzentami.
**Autor korespondencyjny.*

4.3 Omówienie osiągnięcia naukowego

Badania nad produkcją zoptymalizowanych nanocząstek lipidowych rozpoczęłam w ramach studiów doktoranckich na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w 2014 roku. W tym samym roku, w ramach wyjazdu na staż naukowy do Niemiec na Wydział Farmacji Freie Universität Berlin, miałam możliwość dołączenia do grupy badawczej profesora Rainera H. Müllera, pod którego opieką wykonywałam pierwsze syntezy w zakresie nanocząstek lipidowych z wykorzystaniem homogenizacji wysokociśnieniowej. Profesor R.H. Müller uznawany jest za prekursora nanocząstek lipidowych i od 1991 roku prowadzi liczne badania nad ich syntezą oraz nowymi zastosowaniami. Nasza współpraca zaowocowała powstaniem innowacyjnych nanośników substancji czynnych na bazie olejów roślinnych, a wyniki otrzymanych badań zostały wyróżnione nagrodą na międzynarodowej konferencji w Münster (Niemcy, 25-28.03.2015).

W kolejnych latach mogłam kontynuować prace badawcze związane z charakterystyką i optymalizacją nanocząstek lipidowych oraz enkapsulacją monoterpenu (alfa-pinen, cytral, geraniol, limonen, linalol) pod opieką naukową niezwykle cenionej w tej dziedzinie profesor Eliany B. Souto na Wydziale Farmacji w Coimbrze (Portugalia). W ramach wyjazdu naukowego prowadziłam badania nad formą leków o modyfikowanym uwalnianiu dla innowacyjnych formułacji zawierających stałe nanocząstki lipidowe (SLN) inkorporowane monoterpenu oraz testy *in vitro* z wykorzystaniem komór dyfuzyjnych Franz. Trwająca do dzisiaj współpraca z grupą badawczą profesor E.B. Souto zaowocowała zredagowaniem licznych publikacji z listy filadelfijskiej w omawianym obszarze, jak również rozdziałami w monografiach oraz zaprezentowaniem wyników w formie kilkunastu komunikatów naukowych na konferencjach międzynarodowych.

W ramach rozprawy doktorskiej zatytułowanej „*Synteza i charakterystyka stałych nanocząstek oraz nanostrukturalnych nośników lipidowych przeznaczonych do celów kosmetycznych i farmaceutycznych*”, którą obroniłam z wyróżnieniem w 2018 roku, przeprowadzałam finalne badania dotyczące dogłębnej charakterystyki fizykochemicznej

otrzymanych nanonośników inkorporowanych monoterpenami. W badaniach wykazałam istotne wpływy poszczególnych składników nanocząstek na ich ostateczną wielkość i stabilność, co potwierdziłam analizą statystyczną. Ponadto przeprowadziłam badania na wybranych liniach komórkowych potwierdziły silne działanie przeciwnowotworowe wybranych monoterpenów, które inkorporowałam w nanocząstki. Wszystkie wyniki uzyskane zarówno w Polsce jak i za granicą, w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej, jak również podczas realizacji międzynarodowych projektów badawczych, zainspirowały mnie do dalszych poszukiwań nad opracowywaniem skutecznej i powtarzalnej metodologii otrzymywania nanocząstek lipidowych jako nośników substancji aktywnych.

Od 2016 do 2020 roku byłam głównym wykonawcą międzynarodowego projektu „*PAIRED: Magnetically and photochemically actuated bioactive Nanowires for remotely controlled drug delivery*” (M-ERA-NET/0004/2015), którego celem było otrzymanie bardziej wydajnych, kontrolowanych przestrzennie i czasowo metod dostarczania leków. W tym celu byłam odpowiedzialna za projektowanie i produkcję innowacyjnych bioaktywnych hybrydowych nanodrutów jako zaawansowanych nośników leków przeciwnowotworowych. Otrzymane produkty optymalizowałam w celu aktywacji magnetycznej i fotochemicznej w sposób, aby umożliwiały one kontrolowane uwalnianie leku w określonych lokalizacjach jak również generowały lokalną hipertermię w celu wzmocnienia efektów terapeutycznych.

Przedstawiona rozprawa habilitacyjna „**Nanocząstki lipidowe jako skuteczne nośniki substancji aktywnych w leczeniu chorób nowotworowych**” obejmuje cykl sześciu publikacji naukowych, w tym pięciu oryginalnych prac badawczych oznaczonych symbolami [H1]-[H5] oraz jednej pracy przeglądowej [H6]. Prace badawcze [H1]-[H5] dotyczą enkapsulacji różnych monoterpenów o właściwościach przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych w nanocząstki lipidowe, które otrzymywałam za pomocą metody homogenizacji wysokośnieniowej, a następnie charakteryzowałam przy użyciu różnych metod fizykochemicznych. Określałam między innymi wielkość cząstek, potencjał zeta, stabilność oraz szybkość uwalniania substancji aktywnej z nanocząstek. Z kolei praca przeglądowa [H6] obejmuje dogłębny przegląd literatury naukowej dotyczący obiecujących możliwości zastosowania nanofarmaceutyków w schematach chemioterapeutycznych do leczenia różnych typów nowotworów. W pracy omówiłam głównie znaczenie technologii analitycznych, których stosowanie pozwala na scharakteryzowanie nanofarmaceutyków i nanocząstek oraz ich właściwości tak, aby mogły być one właściwie wykorzystywane w potencjalnej terapii onkologicznej. Przegląd dotyczy także obecnego stanu wiedzy w zakresie stosowania nanofarmaceutyków w leczeniu nowotworów oraz najnowszych wyzwań związanych z ich implementacją.

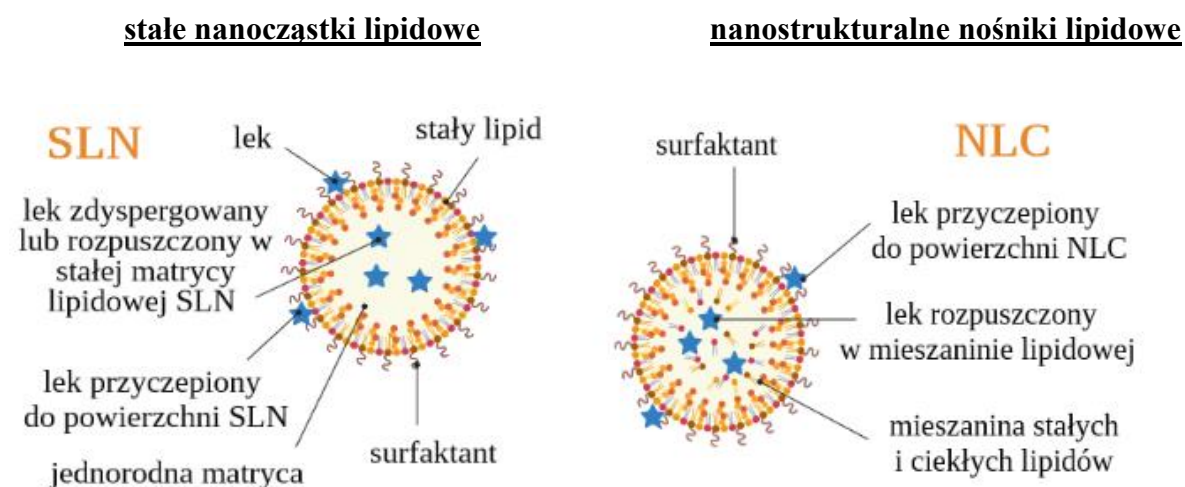
Niniejsze opracowanie stanowi zwięzły opis przeprowadzonych badań naukowych z uwzględnieniem najważniejszych osiągnięć. Wszystkie szczegóły dotyczące procedur otrzymywania i stosowanych technologii w analizie nanocząstek lipidowych inkorporowanych monoterpenami, jak również opis właściwości fizykochemicznych wraz z danymi liczbowymi, rycinami i tabelami przedstawiłam w załączonych publikacjach.

4.3.1 Znaczenie i cel badań

Nanocząstki lipidowe uznawane są obecnie za jedne z najbardziej skutecznych nośników substancji aktywnych i dzięki temu znajdują zastosowanie w różnych dziedzinach naukowo-technologicznych, a zwłaszcza w medycynie. Ich głównym zadaniem jest zwiększenie biodostępności inkorporowanego leku. Nanocząstki lipidowe obejmują:

- I generację, stałe nanocząstki lipidowe (ang. *Solid Lipid Nanoparticles*, SLN), zbudowane wyłącznie z tłuszczów stałych;
- II generację, do której należą nanostrukturalne nośniki lipidowe (ang. *Nanostructured Lipid Carriers*, NLC), w których budowie obecne są nie tylko tłuszcze stałe, ale i tłuszcze ciekłe (oleje).

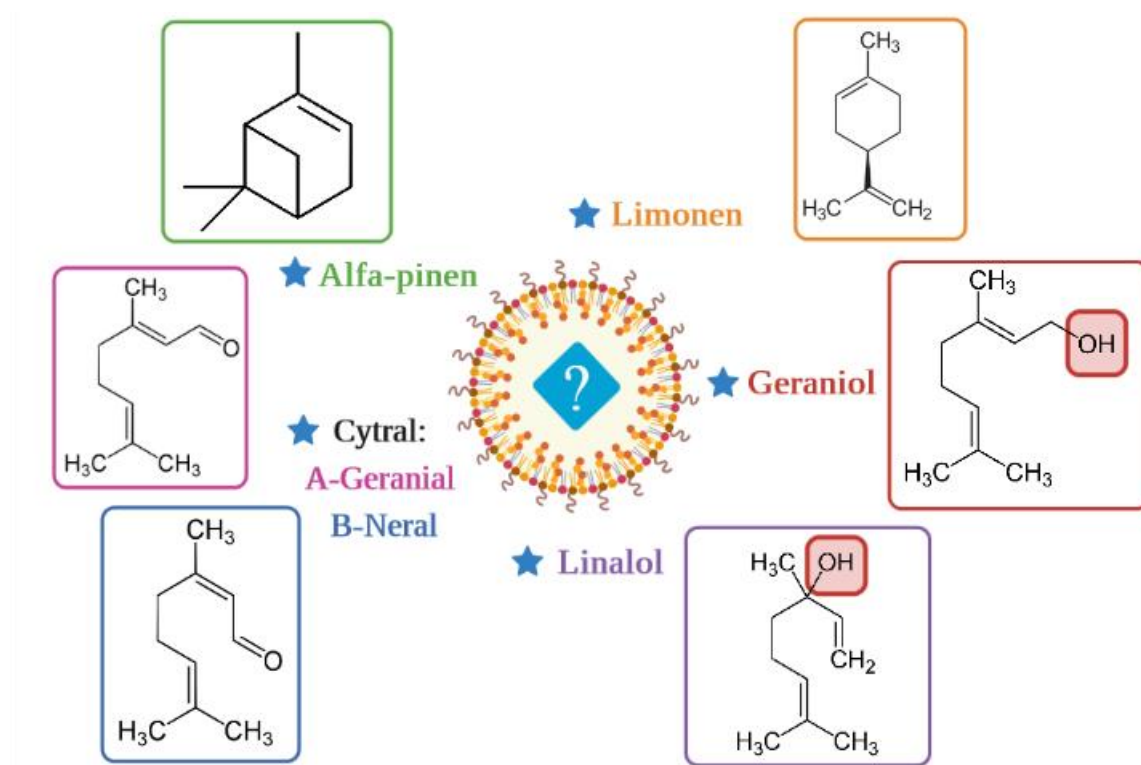
Obie generacje (SLN i NLC) złożone są z dwóch niemieszalnych faz: lipidowej i wodnej, dlatego też do ich produkcji niezbędne jest użycie surfaktantu. Różnicą w budowie obu nanostruktur jest odmienne rozmieszczenie substancji aktywnej w przestrzeni matrycy lipidowej (ryc. 1), która w przypadku SLN posiada jednorodną formę natomiast w NLC stanowi nieuporządkowaną mieszaninę lipidów stałych i ciekłych. Nanocząstki lipidowe charakteryzują się zdolnością do modyfikowanego uwalniania leków, a ponadto nie są toksyczne, co wynika z ich biodegradowalnej matrycy lipidowej, która ulega rozkładowi enzymatycznemu do związków naturalnie występujących w organizmie człowieka.



Ryc. 1. Schematyczna struktura SLN i NLC [opracowanie własne].

Celem badań prowadzonych w ramach niniejszego postępowania habilitacyjnego było nie tylko opracowanie powtarzalnych metod produkcji nanonośników inkorporowanych wybranymi monoterpunami (alfa-pinen, cytral, geraniol, limonen, linalol), ale również analiza właściwości fizykochemicznych, takich jak wielkość otrzymanych cząstek, współczynnik polidispersyjności, wartość potencjału zeta, analiza dotycząca szybkości uwalniania dla każdego zbadanych monoterpenu, oznaczenie efektywności enkapsulacji oraz kompleksowa charakterystyka matrycy lipidowej. Tym sposobem, odpowiednio zoptymalizowane nanonośniki substancji czynnych o określonych właściwościach mogą okazać się niezwykle

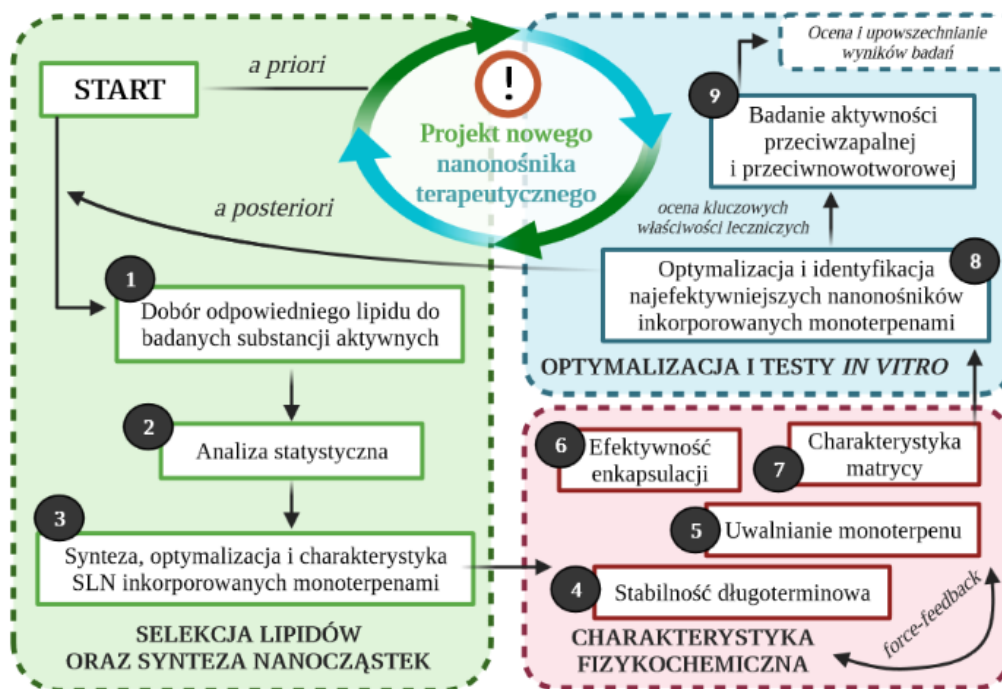
pomocne w leczeniu onkologicznym. Aby móc porównać wszystkie wybrane monoterpény inkorporowane do nanocząstek, przeanalizowałam ich strukturę chemiczną (ryc. 2).



Ryc. 2. Struktury chemiczne monoterpény inkorporowanych do SLN [opracowanie własne].

Okazało się, że możliwe jest jedynie wytworzenie SLN, ponieważ w strukturze geraniolu i linalolu występuje grupa hydroksylowa (grupa wodorotlenowa; -OH), która odpowiada za hydrofilowy charakter cząsteczki tych związków i uniemożliwia wytworzenie NLC. Wynika to z faktu, że oba monoterpény posiadają zwiększoną tendencję do tworzenia miceli na skutek łączenia się grup -OH z niepolarnymi łańcuchami węglowodorowymi surfaktantu, zamiast ich rozproszeniem w matrycy lipidowej. W rezultacie zarówno wysokie powinowactwo do fazy wodnej, jak i dodatkowo wysoka lotność geraniolu/linalolu, uniemożliwiają ich dyspersję w fazie lipidowej, a w konsekwencji również syntezę NLC.

Cel pracy realizowałam według załączonego schematu (ryc. 3).



Ryc. 3. Etapy opracowywania nowego nanonośnika terapeutycznego inkorporowanego wybranym monoterpenem o właściwościach przeciwnowotworowych [opracowanie własne].

4.3.2 Bezpieczeństwo stosowania nanocząstek lipidowych

Potencjalna toksyczność nanocząstek lipidowych może zależeć od trzech aspektów: rozmiaru cząstki, inkorporowanej substancji aktywnej oraz od rodzaju surfaktantu. Zakłada się, że cząstki o wielkości przekraczającej 40 nm nie są zdolne przeniknąć do żywych komórek naskórka ani do krwioobiegu, a tym samym nie wywołują działań niepożądanych dla organizmu. Z kolei w zależności od właściwości fizykochemicznych zastosowanej substancji czynnej, a przede wszystkim od sposobu jej uwalniania do krwioobiegu – w przypadku procesu niekontrolowanego i nieodpowiednio mierzonego, może dojść do wywołania natychmiastowej reakcji nadwrażliwości organizmu (anafilaksja). Niezwykle istotnym czynnikiem warunkującym bezpieczeństwo stosowania nanocząstek lipidowych jest odpowiedni dobór surfaktantu. Przeprowadzone dotychczas badania naukowe dowiodły, że najbezpieczniejsze w użyciu są surfaktanty niejonowe. Ponadto wszystkie substancje pomocnicze, wchodzące w skład SLN/NLC powinny wykazywać działanie obojętne na organizm człowieka. Do syntezy nanocząstek lipidowych można stosować zatem jedynie związki, które zostały zaakceptowane przez Agencję Żywności i Leków (ang. *American Food and Drug Administration*, FDA) oraz Europejską Agencję Leków (ang. *European Medicines Agency*, EMA) i znajdują się na liście substancji uważanych za bezpieczne (ang. *Generally Recognized As Safe*, GRAS). Oprócz wielkości i biodegradowalności nanocząstek należy zwracać uwagę na ich drogę podania. Najnowsze badania naukowe wskazują podawanie przezskórne jako najmniej inwazyjny system dostarczania leków. W przypadku podawania miejscowego SLN, dozwolone jest wykorzystywanie wszystkich powszechnie stosowanych w przemyśle farmaceutycznym substancji pomocniczych. Natomiast w podawaniu doustnym

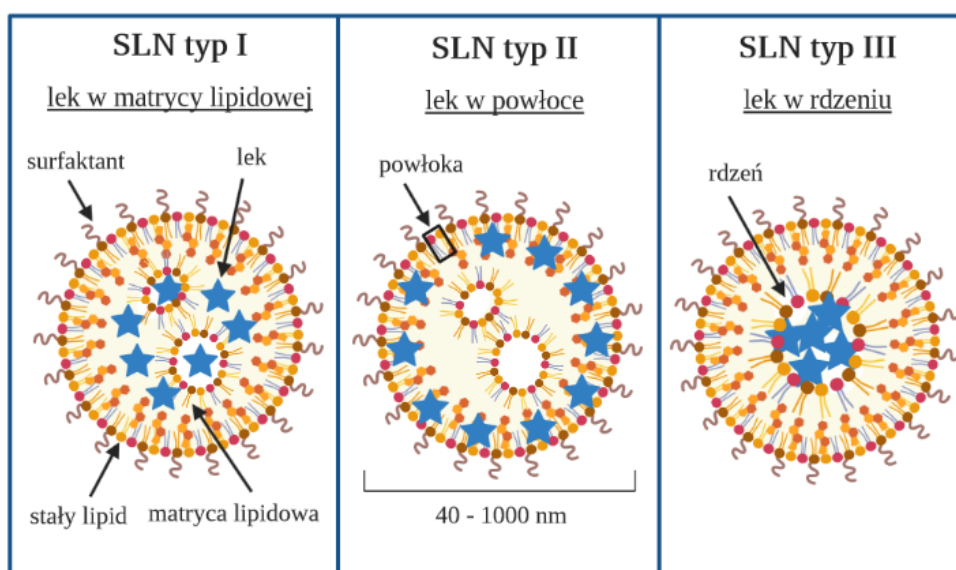
nanocząstek, dopuszczalne jest stosowanie lipidów i surfaktantów używanych do produkcji leków w postaci tabletek, granulatów oraz kapsułek.

4.3.3 Inkorporowanie i uwalnianie substancji aktywnej

Ważnym czynnikiem charakteryzującym zdolność nanocząstek lipidowych do inkorporacji substancji aktywnej jest pojemność ładunkowa (ang. *loading capacity*, LC) - wyrażana w procentach i określająca ilość substancji aktywnej, która może być związana z fazą lipidową. Warunkiem koniecznym do uzyskania odpowiedniej pojemności ładunkowej nanocząstek lipidowych jest m.in. wysoka rozpuszczalność leku w stopionym lipidzie, mieszalność stopionego leku ze stopionym lipidem, chemiczna i fizyczna struktura stałej matrycy lipidowej oraz stan polimorficzny materiału lipidowego. Zazwyczaj rozpuszczalność leku powinna być wyższa niż wymagana, ponieważ ulega ona obniżeniu w trakcie chłodzenia mieszaniny.

W zależności od stężenia i rozpuszczalności, substancje aktywne mogą być inkorporowane w rdzeniu (ang. *drug-enriched core*) lub w powłoce (ang. *drug-enriched shell*) lub też mogą zostać molekularnie rozproszone w całej matrycy lipidowej nanocząstki (ang. *solid solution*) (ryc. 4). Następnie na podstawie typu inkorporacji, można wyróżnić najważniejsze postacie leku: o przedłużonym, opóźnionym, pulsacyjnym oraz przyspieszonym uwalnianiu.

Modyfikowane uwalnianie leku (ang. *modified released dosage form*, MR) zależy m.in. od składników formułacji oraz sposobu jej wytwarzania. Najszybciej uwalniane są substancje aktywne i leki, które zostały zdyspergowane w całej matrycy SLN. Znacznie wolniej zachodzi natomiast uwalnianie leku inkorporowanego w rdzeniu. Ten model uwalniania wykazują cząstki wytworzone metodą homogenizacji wysokociśnieniowej na gorąco. Początkowo szybsze uwalnianie leku zachodzi pod wpływem działania wysokiej temperatury procesu i spowodowane jest większą rozpuszczalnością składników aktywnych w wodzie o wyższej temperaturze.



Ryc. 4. Rozmieszczenie substancji aktywnej w zależności od typu SLN [opracowanie własne].

4.3.3 Omówienie wyników

Do optymalizacji składu nanocząstek lipidowych została wykorzystana analiza statystyczna w celu znalezienia odpowiedniego stosunku składników i parametrów do produkcji. Tym samym, w pięciu oryginalnych publikacjach naukowych [H1]-[H5] badałam wpływ czynników niezależnych i zależnych dla syntezowanych SLN inkorporowanych monoterpenami. Zmiennymi niezależnymi były: surfaktant (Poloxamer 188) oraz stały lipid (Imwitor® 900 K- wybrany podczas selekcji lipidów), natomiast na zmienne zależne wybrano: wielkość cząstek (ang. *Z-Average*, *Z-Ave*), wskaźnik polidispersyjności (ang. *Polydispersity Index*, PDI) i potencjał zeta (ang. *Zeta Potential*, ZP). W rezultacie powstał projekt czynnikowy 2^2 , składający się z dwóch czynników niezależnych, ustalonych na dwóch poziomach (tab. 1). Dla każdego czynnika niezależnego ustalono odpowiednie wartości poziomów: dolnego (-1), górnego (+1) oraz centralnego (0). Wszystkie dane analizowano za pomocą oprogramowania Statistica 7.0 (Statsoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). W celu zbadania wpływu zmiennych niezależnych na zmienną zależną przeprowadzono również analizę wariancji - test statystyczny ANOVA, pomagający oszacować prawdopodobieństwo, z jakim wyodrębnione czynniki mogą być powodem różnic między obserwowanymi średnimi grupowymi.

Tabela 1. Wyjściowy 2-poziomowy projekt czynnikowy, zawierający wartości: niższe (-1), wyższe (+1) i wartości poziomu centralnego (0) dla każdej zmiennej.

| Czynniki niezależne | Poziomy | | |
|-----------------------|-------------|------------|----------|
| | - 1 | 0 | + 1 |
| Imwitor® 900 K | 2% (m/v) | 4% (m/v) | 8% (m/v) |
| Poloxamer 188 | 1,25% (m/v) | 2,5% (m/v) | 5% (m/v) |

W pracy [H1] „*Anti-inflammatory and anti-cancer activity of citral: Optimization of citral-loaded solid lipid nanoparticles (SLN) using experimental factorial design and LUMiSizer*” (2018) dokonywałam nie tylko optymalizacji nanocząstek lipidowych, ale przede wszystkim badałam działanie przeciwzapalne i przeciwnowotworowe wybranych monoterpenów. Celem badań była enkapsulacja monoterpeny o silniejszym działaniu przeciwzapalnym i przeciwnowotworowym oraz przyspieszone testy stabilności za pomocą analizatora dyspersji *LUMiSizer*. W pierwszym etapie pracy testowałam aktywność przeciwzapalną cytralu i geraniolu, oceniając ich aktywność inhibicji tlenku azotu (NO). Przeprowadzone badania wykazały, że w komórkach RAW 264.7 przy najniższym przygotowanym stężeniu (5 µg/ml) cytral hamował wytwarzanie NO aż w 84%, podczas gdy geraniol w 52% (w tym samym stężeniu). Dodatkowo, przy najwyższych badanych stężeniach (20 µg/ml) aktywność hamowania dla cytralu wynosiła 99%, wskazując jednocześnie na wyższy potencjał przeciwnowotworowy tego związku. Tym samym, w następnym etapie dokonałam oceny cytotoksyczności cytralu na dwóch modelach komórkowych skóry: nienowotworowym HaCaT oraz nowotworowym A431.

Kolejnym etapem było opracowanie powtarzalnej metodyki otrzymywania SLN inkorporowanych cytralem. Po dokonaniu selekcji stałego lipidu, przeprowadziłam analizę statystyczną, w celu wybrania najbardziej optymalnego składu dyspersji cytral-SLN. Do syntezy nanocząstek lipidowych zastosowałam metodę homogenizacji wysokoobrotowej (Ultra-Turrax® T25), a następnie wysokociśnieniowej na gorąco. Dla otrzymanych SLN analizowałam właściwości fizykochemiczne, takie jak: Z-Ave, PDI oraz ZP.

Uzyskane wyniki wykazały, że najlepiej zoptymalizowaną okazała się dyspersja SLN, zawierająca 1% m/v cytralu, 4% m/v stałego lipidu (Imwitor® 900 K) oraz 2,5% m/v surfaktantu (Poloxamer 188). Resztę składu, tj. 92,5% m/v, stanowiła woda demineralizowana (Milli-Q® Plus). Wielkość otrzymanych cząstek wynosiła 97,7 nm, przy wskaźniku polidispersyjności 0,249. Końcowym etapem badań była przyspieszona analiza stabilności wszystkich SLN, przechowywanych w temperaturze pokojowej 25°C przez okres jednego miesiąca. Za pomocą ewolucji profili transmisyjnych, które dostarczyły informacji m.in. na temat kinetyki procesu rozdzielania, indeksu niestabilności czy prędkości sedymentacji, dokonałam charakterystyki wszystkich otrzymanych SLN.

Odpowiedni dobór lipidów to jeden z najistotniejszych etapów poprzedzających syntezę nanocząstek lipidowych. Jego głównym celem jest wybór najbardziej jednorodnej mieszaniny, którego dokonuje się na podstawie obserwacji rozpuszczalności inkorporowanej substancji czynnej w określonym lipidzie, zmieszanych ze sobą w optymalnym stosunku: substancja czynna/stały lipid. Dokładną procedurę selekcji lipidów opisałam w pracy [H2] i [H3], wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

We wszystkich badaniach testowałam osiem różnych lipidów stałych: Compitol® 888 ATO, Dynasan® 116, Dynasan® 118, Dynasan® P 60 (F), Imwitor® 900 K, Kolliwax® GMS II, Precirol® ATO 5 i Witepsol® E85. Na podstawie selekcji lipidów, najbardziej przystawalnym lipidem dla wszystkich badanych monoterpenu okazał się Imwitor® 900 K, którego z tego powodu wybrałam do syntezy wszystkich SLN. Wysoką kompatybilność tego lipidu wytłumaczyłam obecnością długiego łańcucha alkilowego oraz amfifilowego charakteru struktury chemicznej monostearynianu glicerolu, zapewniającego dobrą stabilność dla wszystkich polarnych i niepolarnych związków.

W kolejnej pracy zatytułowanej [H2] „*Optimization of linalool-loaded solid lipid nanoparticles using experimental factorial design and long-term stability studies with a new centrifugal sedimentation method*” (2018) skupiłam się głównie na opracowaniu skutecznej metodologii enkapsulacji linalolu, który podobnie jak geraniol mógł zostać włączony w strukturę jedynie SLN. Dotychczasowe badania wskazywały, że linalol jest cennym związkiem o szerokim spektrum właściwości terapeutycznych, jednak obiecujące efekty terapeutyczne tego monoterpenu są ograniczone z uwagi na jego słabą rozpuszczalność w wodzie i lotność. Dowiedziono, że enkapsulacja linalolu w systemach dostarczania leków, takich jak nanocząstki lipidowe umożliwia przezwyciężenie ograniczeń fizykochemicznych linalolu. Dlatego też celem kolejnych badań było otrzymanie i zoptymalizowanie linalolu enkapsulowanego w SLN z wykorzystaniem eksperymentalnego projektu czynnikowego. W ramach tej pracy, za pomocą nowoczesnej metody sedymentacji odśrodkowej *LUMiSizer* oszacowałam długoterminową stabilność wytworzonego SLN inkorporowanego linalolem. Wszystkie dyspersje SLN otrzymałam metodą homogenizacji wysokociśnieniowej na gorąco. Wpływ zmiennych niezależnych, stężeń surfaktantów i lipidów na wielkość cząstek linalol-

SLN, wskaźnik polidispersyjności i potencjał zeta oceniałam za pomocą 2^2 czynnیکowego projektu złożonego z dwóch zmiennych, z których każda została określona na dwa poziomy. Dla każdej z trzech zmiennych zależnych przeprowadziłam analizę wariancji ANOVA z 95% przedziałem ufności. Wyniki dowiodły, że stężenie surfaktantu, jak również oddziaływanie między różnymi stężeniami lipidu a surfaktantem miało statystycznie istotny wpływ na Z-Ave i PDI. Eksperymentalne projektowanie czynnیکowe zostało z powodzeniem zastosowane do opracowania optymalnej dyspersji SLN, wymagającej minimum przeprowadzonych eksperymentów. W oparciu o uzyskane wyniki, optymalna dyspersja SLN załadowana linalolem składała się z 1% m/v linalolu, 2% m/v stałego lipidu i 5% m/v surfaktantu. Ponadto analiza stabilności wykazała, że wytworzone dyspersje SLN obciążone linalolem miały ograniczoną stabilność podczas przechowywania, którą można łatwo przewyżczyć poprzez nałożenie powłoki polimerowej na powierzchnię SLN. Z kolei *LUMiSizer* zastosowałam do analizy kinetycznej linalolu-SLN podczas przyspieszonego czasu przechowywania.

Celem moich badań w pracy [H3] „*Development and Optimization of Alpha-Pinene-Loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Using Experimental Factorial Design and Dispersion Analysis*” (2019) było opracowanie powtarzalnej metodyki otrzymywania stałych nanocząstek lipidowych inkorporowanych alfa-pinenem. Niniejsze badania także przeprowadziłam z wykorzystaniem analizy statystycznej i analizy dyspersji. W pierwszej kolejności dokonałam wyboru stałego lipidu, który stanowił matrycę nanocząstek. Selekcję lipidów przeprowadziłam badając rozpuszczalność alfa-pinenu w określonym lipidzie. Następnie ponownie za pomocą analizy statystycznej dokonałam wyboru najbardziej optymalnego składu, tj. właściwego stosunku stałego lipidu i surfaktantu do dyspersji SLN, co umożliwiło skuteczną enkapsulację alfa-pinenu do SLN. Nanocząstki lipidowe otrzymywałam metodą homogenizacji wysokociśnieniowej na gorąco, poprzedzonej przygotowaniem pre-emulsji za pomocą homogenizacji z wykorzystaniem urządzenia Ultra-Turrax® T25. Wpływ zmiennych niezależnych (lipidu i surfaktantu) na właściwości fizykochemiczne SLN, takich jak Z-Ave, PDI i ZP oszacowałam za pomocą układu czynnیکowego 2^2 .

Na podstawie otrzymanych wyników wybrałam optymalny skład SLN, który składał się z 1% m/v alfa-pinenu, 4% m/v stałego lipidu (Imwitor® 900 K), 2,5% m/v surfaktantu (Poloxamer 188) oraz 92,5% m/v wody demineralizowanej Milli Q® Plus, dla której wymagana rezystywność osiągnęła wartość powyżej $18,2 \text{ M}\Omega \times \text{cm}$ (w temp. 25°C). Wielkość cząstek dla zoptymalizowanej dyspersji wynosiła 136,7 nm, przy wskaźniku polidispersyjności 0,170. Następnym etapem badań było przeprowadzenie analizy stabilności za pomocą *LUMiSizera*, będącego obecnie jednym z najnowocześniejszych urządzeń do wykrywania wszelkich zjawisk niestabilności dyspersji. Na podstawie uzyskanych profili transmisyjnych, zawierających informacje na temat kinetyki procesu rozdzielania, dokonałam charakterystyki SLN z uwzględnieniem tzw. indeksu niestabilności oraz prędkości sedymentacji.

Celem moich badań opublikowanych jako [H4] „*Loading, release kinetics and stability assessment of monoterpenes - loaded solid lipid nanoparticles (SLN)*” (2020) była inkorporacja do SLN wybranych monoterpenu: alfa-pinenu, cytralu, geraniolu i limonenu, a następnie charakterystyka fizykochemiczna otrzymanych nanostruktur. Aby porównać pojemność ładunkową, stabilność oraz kinetykę uwalniania wybranych substancji aktywnych,

dla wszystkich monoterpenów przygotowałam jednakowy skład SLN. Po wyborze jednakowego dla wszystkich badanych monoterpenów stałego lipidu, przeprowadziłam ponownie analizę statystyczną, a następnie otrzymywałam SLN za pomocą homogenizacji wysokociśnieniowej na gorąco, poprzedzonej homogenizacją wysokoobrotową za pomocą aparatu Ultra-Turrax® T25. W efekcie, skład wszystkich SLN obejmował: 1% m/v monoterpenu (alfa-pinen, cytralu, geraniolu, limonenu), 4% m/v stałego lipidu - Imwitor® 900 K, 2,5% m/v surfaktantu- Poloxamer 188 oraz 92,5% m/v wody demineralizowanej - Milli-Q® Plus. Dodatkowo przygotowałam tzw. próbę kontrolną, oznaczoną jako „pusty SLN”, która nie zawierała składnika aktywnego, a tym samym składała się z 5% m/v tego samego lipidu (Imwitor® 900 K) i 2,5% m/v identycznego surfaktantu (Poloxamer 188). Wielkość otrzymanych cząstek mieściła się w granicach od 90 nm (alfa-pinen-SLN) do 140 nm (limonen-SLN), przy PDI w zakresie od 0,169 (alfa-pinen-SLN) do 0,338 (limonen-SLN). Ponadto za pomocą *LUMiSizer*a analizowałam wszystkie SLN (w dniu wytworzenia nanocząstek oraz po tygodniowym przechowywaniu w temperaturze 25°C) w celu wykrycia zjawisk niestabilności. Profil uwalniania monoterpenów z SLN określiłam za pomocą komór dyfuzyjnych Franza oraz spektrofotometru UV-Vis.

Następnie, przeprowadziłam proces liofilizacji za pomocą urządzenia *Freeze Dryer (Scanvac Cool Safe)* w temperaturze -54°C i pod ciśnieniem 46 mbar dla wszystkich SLN inkorporowanych monoterpenami. Proces suszenia trwał 12 godzin, a otrzymane próbki miały postać białego proszku. Obliczyłam także efektywności enkapsulacji monoterpenów z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej. Kolejnym etapem moich badań była charakterystyka matrycy lipidowej nanocząstek za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (XRD, nisko- i szerokokątowej), jak również określenie zachowań fazowych SLN, badanych za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Przeprowadzone badania wykazały możliwość enkapsulacji lotnych związków, bowiem wszystkie wybrane monoterpeny zostały z powodzeniem inkorporowane do SLN.

W publikacji [H5] „*(+)-Limonene 1,2-Epoxyde-Loaded SLNs: Evaluation of Drug Release, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity in an HaCaT Cell Line*” (2020) został przedstawiony preparat na bazie SLN inkorporowanych 1,2-epoksydem (+)-limonenu i monostearynianem glicerolu (*Lim-SLN*), dodatkowo stabilizowany Poloxamerem 188. Biorąc pod uwagę udokumentowane działanie przeciwnowotworowe (+)-limonenu, celem moich badań było opracowanie stałych nanocząstek lipidowych jako potencjalnych nośników dla 1,2-epoksydu (+)-limonenu (*Lim-SLN*) oraz zbadanie wpływu tych cząstek na profil uwalniania, aktywność antyoksydacyjną i cytotoksyczność w linii komórkowej keratynocytów. Kilka doniesień naukowych potwierdza, że 1,2-epoksyd (+)-limonenu może indukować apoptozę komórek nowotworowych, a także hamować szlaki PI3K/Akt/mTOR17 i NF-κB. W niniejszej pracy oceniałam rolę SLN w peroksydacji lipidów i cytotoksyczności w spontanicznie przekształconej linii komórek keratynocytów nieśmiertelnych aneuploidów ze skóry dorosłego człowieka (linia komórkowa HaCaT). Do przeprowadzenia testu żywotności komórek zastosowaliśmy kolorymetryczny test bromku 3-(4,5-dimetylo-2-tiazolilo)-2,5-difenylo-2H-tetrazoliowego (MTT). Nanocząstki *Lim-SLN* otrzymywałam przy użyciu homogenizacji wysokociśnieniowej. W efekcie otrzymane nanonośniki charakteryzowały się pojemnością ładowania 0,39% oraz wydajnością enkapsulacji wynoszącą 63%. Średnia wielkość cząstek dla *Lim-SLN* mieściła się w zakresie $194 \pm 3,4$ nm

przy wskaźniku polidispersyjności 0,244, podczas gdy próba kontrolna (bez monoterpeny) uzyskała wielkość $203 \pm 1,5$ nm, przy PDI wynoszącym 0,213. Profil uwalniania monoterpeny z SLN był dopasowany do modelu kinetycznego zerowego rzędu, typowego dla preparatów o kontrolowanym uwalnianiu. Inkorporacja monoterpeny nie wpłynęła na profil antyoksydacyjny. Uzyskane wyniki wzmacniają wartość dodaną stosowania naturalnie występujących związków przeciwutleniających i przeciwnowotworowych w innowacyjnych preparatach, które mogą być dalej wykorzystywane w kilku drogach podawania, w tym doustnych i miejscowych. Nanocząstki lipidowe są szczególnie interesujące jako nośniki leków do stosowania na skórę i doustnie ze względu na ich rolę jako wzmacniaczy przenikania i wchłaniania, ponieważ ich skład przypomina zarówno lipidy organizmu człowieka, jak i pożywienia.

Z kolei praca zatytułowana [H6] „*Cancer Nanopharmaceuticals: Physicochemical Characterization and In Vitro/In Vivo Applications*” (2021) stanowi wnikliwy przegląd najnowszego piśmiennictwa dotyczącego głównie właściwości i zastosowania *in vitro* oraz *in vivo* szeroko pojętej grupy nanofarmaceutyków onkologicznych. W niniejszym przeglądzie szczegółowo omówiłam najważniejsze metody stosowane do charakterystyki fizykochemicznej, farmakokinetycznej i biofarmaceutycznej, które odgrywają kluczową rolę w ocenie potencjalnej analizy obrazowania nanofarmaceutyków oraz w specyficznym dostarczaniu leków przeciwnowotworowych do komórek/tkanek nowotworowych. Co ważne, kilka technologii analitycznych pozwala na scharakteryzowanie nanofarmaceutyków i nanocząstek oraz ich właściwości w sposób, aby mogły być właściwie wykorzystywane w terapii onkologicznej. W pracy podkreśliłam także rolę wielofunkcyjnych nanocząstek w diagnostyce i leczeniu nowotworów, wyjaśniając sposób, w jaki nanoterapeutyki mogą być przydatne w nowoczesnej chemioterapii, a także przedstawiłam wyzwania związanego z komercjalizacją nanocząstek do leczenia nowotworów.

4.3.4 Podsumowanie i wnioski

Pomimo że istnieje kilka dostępnych klinicznie terapii przeciwnowotworowych, to idealny lek przeciwnowotworowy nie został jeszcze odkryty. Liczne skutki uboczne klasycznych leków chemioterapeutycznych ograniczają leczenie. Dotychczas prowadzone badania nad nowymi lekami ujawniły szereg nowych struktur chemicznych o silnej aktywności biologicznej, które są interesujące w aspekcie leczenia raka. Wybrane do moich badań monoterpeny stanowią najbardziej rozpowszechnioną grupę naturalnie występujących w przyrodzie związków organicznych, będących głównymi składnikami olejków eterycznych. Z uwagi na potwierdzone badaniami liczne właściwości (przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwbólowe, przeciwłękowe, przeciwnowotworowe) stały się głównym przedmiotem moich zainteresowań w badaniach nad inkorporacją w nanocząstki lipidowe i celowanym dostarczaniu jako alternatywne źródło terapeutyczne.

W wyniku przeprowadzonych badań:

- a. Opracowałam powtarzalne metody syntezy dla stałych nanocząstek lipidowych (SLN) inkorporowanych: alfa-pinenem, cytralem, geraniolem, limonenem i linalolem dla potrzeb biomedycznych.
- b. Scharakteryzowałam właściwości fizykochemiczne otrzymanych nanostruktur służących jako nośniki leków przeciwnowotworowych.
- c. Zbadałam aktywność przeciwzapalną i przeciwnowotworową związków inkorporowanych do nanocząstek lipidowych.
- d. Obliczyłam szybkość uwalniania z SLN dla każdego z badanych monoterpenu o właściwościach przeciwnowotworowych.
- e. Oznaczyłam efektywności enkapsulacji oraz ilości zainkorporowanych substancji aktywnych.
- f. Wykonałam kompleksową analizę matryc lipidowych otrzymanych SLN, będących nośnikami leków.
- g. Otrzymane i zoptymalizowane nanocząstki lipidowe posiadały założone przed syntezą właściwości przeciwzapalne i przeciwnowotworowe.
- h. W rezultacie, nowo powstałe SLN mogą znaleźć zastosowanie w medycynie jako nośniki monoterpenu do produkcji innowacyjnych produktów leczniczych.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1 Zainteresowania naukowo-badawcze

Obecnie istnieje potrzeba tworzenia nowych, wygodnych aplikacyjnie, a zarazem skutecznie działających form leków o kontrolowanym uwalnianiu i dostarczaniu do określonego narządu. Moje zainteresowania naukowe wpisują się we wspomniany nurt i obejmują opracowanie powtarzalnych procedur otrzymywania nanocząstek lipidowych, zawierających w składzie substancje aktywne. Wśród substancji, które obecnie staram się inkorporować w nanocząstki, są przeciwciała monoklonalne (mAb), wprowadzone w latach 90. XX wieku do leczenia nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ) – w tym wrzodziejącego zapalenia jelita grubego oraz choroby Leśniowskiego-Crohna, które stanowią obszar mojej specjalności badawczej. W Polsce na te przewlekłe i nieuleczalne jak dotąd schorzenia przewodu pokarmowego cierpi już ponad 50 tysięcy pacjentów, a ich liczba wciąż rośnie. Powszechnie stosowane terapie mAb powodują częste działania niepożądane po podaniu dożylnym. Innym problemem jest spadek efektywności mAb wraz z czasem ich przechowywania. Ponadto przeciwciała podawane są w formie zastrzyków dożylnych, co powoduje ból i dyskomfort u części pacjentów.

Dlatego też aktualnym celem prowadzonych przeze mnie badań jest opracowanie skutecznego i powtarzalnego sposobu inkorporacji mAb w nanocząstki lipidowe, które mogą być podawane doustnie. Dzięki temu możliwa będzie poprawa stabilności mAb, przy jednoczesnym ograniczeniu częstości działań niepożądanych. Do tej pory, uzyskałam

obiecujące wyniki badań wstępnych, które dowiodły, że nanocząstki lipidowe powleczone przeciwciałami zapewniają nie tylko wzrost stabilności mAb, ale też zmniejszają ich immunogenność¹. Nowością moich badań jest doustna forma podawania mAb w postaci kapsułek, opornych na działanie soku żołądkowego i ulegających rozkładowi w jelicie, co może znacząco poprawić komfort pacjentów.

Mój najnowszy pomysł zastosowania nanocząstek lipidowych w podaniu doustnym związany jest głównie z ich bezpieczeństwem oraz zdolnością do szybszego podawania dojelitowego. Zrozumienie wpływu ich niewielkich rozmiarów i kształtu na późniejszy rozkład w jelicie może znaleźć zastosowanie podczas opracowywania nanokapsułek w terapii NChZJ. Utworzona podczas produkcji nanocząstek zewnętrzna otoczka lipidowa ulegnie rozkładowi pod wpływem enzymów do składników naturalnie występujących w ludzkim organizmie, co daje gwarancję bezpieczeństwa stosowania tego typu nośników.

Zaprojektowany, wielowątkowy tok badań zaczyna przynosić oczekiwany pozytywny rezultat, gdyż w oparciu o wnikliwą interpretację wyników, istotnie pogłębiającą stan wiedzy w zakresie problematyki badań, moje prace już teraz oferują gotowe rozwiązania aplikacyjne. Prowadzone badania umożliwiają mi nie tylko wzmocnienie synergii badawczych i komplementarności w ramach czynnej współpracy międzynarodowej, ale także inicjują kolejne prace i wspólne projekty multidyscyplinarne, mające na celu uzyskanie przełomowych rezultatów przy zastosowaniu nanocząstek lipidowych jako nanonośników leków gastroenterologicznych w leczeniu nieswoistych zapaleń jelit.

5.2 Współpraca naukowa w kraju i za granicą

W ramach moich badań współpracuję z wybitnymi naukowcami z Polski i zagranicy w zakresie nanotechnologii, farmacji, immunologii, onkologii, gastroenterologii, biotechnologii, genetyki oraz chemii. Najważniejsze współpracy, jak również te, które zaowocowały licznymi publikacjami przedstawiłam w tabeli 2.

Od 2016 roku **posiadam również afiliację naukową zagraniczną** z Uniwersytetu w Coimbrze oraz Uniwersytetu Minho w Bradze (Portugalia) z uwagi na moją aktywną współpracę z profesorem Elianą B. Souto oraz pracę w roli głównego wykonawcy projektu „*PAIRED: Magnetically and photochemically actuated bioactive Nanowires for remotely controlled drug delivery*” (M-ERA-NET/0004/2015), finansowanym przez *the Portuguese Science and Technology Foundation, Ministry of Science and Education (FCT/MEC), through national funds and cofinanced by FEDER, under the Partnership Agreement PT2020*.

W tym celu zostałam zarejestrowana na portugalskiej platformie *CiênciaVitae*:
Ciência ID: 9B1B-A35C-D809 (<https://www.cienciavitae.pt/9B1B-A35C-D809>)

¹ Souto, E.B.; Souto, S.B.; **Zielińska, A.**; Durazzo, A.; Lucarini, M.; Santini, A.; Horbańczuk, O.K.; Atanasov, A.G.; Marques, C.; Andrade, L.N.; Silva, A.M.; Severino, P. Perillaldehyde 1,2-epoxide Loaded SLN-Tailored mAb: Production, Physicochemical Characterization and In Vitro Cytotoxicity Profile in MCF-7 Cell Lines. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 161. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020161>

Tabela 2. Najważniejsze współpracy międzynarodowe i krajowe.

| Nazwa ośrodka naukowego | Kraj | Osoba współpracująca |
|---|---------------------------------|----------------------|
| Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, 3000-548 Coimbra; CEB-Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga | Portugalia | Eliana B. Souto |
| Centre for Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real; Department of Biology and Environment, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real | | Amélia Silva |
| CREA-Research Centre for Food and Nutrition, Via Ardeatina 546, 00178 Rome | Włochy | Alessandra Durazzo |
| Department of Pharmacy, University of Napoli Federico II, 80131 Napoli | | Antonello Santini |
| Department of Agricultural Sciences, University of Napoli Federico II, Via Università 100, 80055 Portici, Napoli | | Raffaele Capasso |
| Laboratory of Biomaterials and Nanotechnology (LaBNUS), University of Sorocaba, Sorocaba 18078-005, São Paulo | Brazylia | Marco V. Chaud |
| Institute of Technology and Research (ITP), Avenida Murilo Dantas 300, 49010-390 Aracaju; Industrial Biotechnology, Tiradentes University (UNIT) Avenida Murilo Dantas 300, 49032-490 Aracaju | | Patrícia Severino |
| Tiradentes Institute, 150 Mt, Vernon Street, Dorchester, Massachusetts 02125, Unites States; Division of Engineering in Medicine, Department of Medicine, Harvard Medical School, Brigham and Women's Hospital, Cambridge, Massachusetts 02139, Unites States | USA | Patrícia Severino |
| | | Su Ryon Shin |
| UCLan School of Pharmacy & Biomedical Sciences, University of Central Lancashire, Preston | Wielka Brytania | Kamalinder K. Singh |
| Department of Pharmacognosy, University of Vienna, Althanstraße 14, 1090 Vienna; Austria Ludwig Boltzmann Institute for Digital Health and Patient Safety, Medical University of Vienna, Spitalgasse 23, 1090 Vienna; Austria; Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences, 23 Acad. G. Bonchev str., 1113 Sofia, Bulgaria; Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences, Jastrzębiec, 05-552 Magdalenka, Polska | Austria, Bułgaria, Polska | Atanas G. Atanasov |
| Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych | Polska | Piotr Eder |
| Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego Katedra Medycyny Środowiskowej; Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych | | Jacek Karczewski |

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

6.1 Działalność dydaktyczna i popularyzatorska

| Wykaz prowadzonych zajęć dydaktycznych | Miejsce prowadzenia zajęć | Ilość godzin | Pełniona funkcja |
|--|--|---------------------|---|
| 2013/2014 | | | |
| Preparaty do pielęgnacji skóry | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 45 | doktorant-wykładowca |
| <i>Labirynt Piękności - warsztaty dla dzieci w ramach Nocy Naukowców 2013</i> | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca |
| Warsztaty dla nauczycieli w ramach konferencji <i>Nowe wyzwania dydaktyki chemii</i> | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | wykładowca (28.02.2014) |
| Warsztaty podczas <i>Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki 2014</i> | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca (10.04.2014) |
| Preparaty do pielęgnacji skóry; zajęcia laboratoryjne dla uczniów klas akademickich | I Liceum Ogólnokształcące im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu | 9 | doktorant-wykładowca (22.05.2014) |
| Współorganizator międzynarodowej konferencji naukowej <i>BaltSilica 2014</i> | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 72 | współorganizator (01-3.06.2014) |
| 2014/2015 | | | |
| Preparaty do pielęgnacji skóry | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 90 | doktorant-wykładowca |
| <i>Labirynt Piękności - warsztaty dla dzieci w ramach Nocy Naukowców 2014</i> | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca |
| Warsztaty podczas <i>Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki 2015</i> | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca (10.04.2015) |
| Projekt pracy magisterskiej, wspólne prowadzenie badań, omawianie wyników, recenzja dysertacji | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | cały rok akademicki | opiekun pracy magisterskiej; pani Marty Dąbrowskiej |
| 2015/2016 | | | |

| | | | |
|--|--|---------------------|---|
| Preparaty do pielęgnacji skóry | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 75 | doktorant-wykładowca |
| Labirynt Piękności - warsztaty dla dzieci w ramach Nocy Naukowców 2015 | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca |
| Współorganizator międzynarodowej konferencji WG3 Meeting, COST Action CM1104 Reducible oxide chemistry, structure and functions | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 24 | współorganizator (26-27.11.2015) |
| Udział i pomoc w organizacji seminarium – spotkania z przemysłem w ramach cyklu Chemia w służbie Kosmetyki IX, Nadchodzące wyzwania dla przemysłu kosmetycznego | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator (04.12.2015) |
| Warsztaty podczas Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki 2016 | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca (11.04.2016) |
| Projekt pracy magisterskiej, wspólne prowadzenie badań, omawianie wyników, recenzja dysertacji | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | cały rok akademicki | opiekun pracy magisterskiej; pani Justyny Przenicznej |
| 2016/2017 | | | |
| Preparaty do pielęgnacji skóry | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 35* | doktorant-wykładowca |
| Labirynt Piękności - warsztaty dla dzieci w ramach Nocy Naukowców 2016 | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca |
| Warsztaty podczas Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki 2017 | Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | 6 | współorganizator i wykładowca (10.04.2017) |
| Wspólne prowadzenie badań, omawianie wyników | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | I. semestr | opiekun pracy magisterskiej realizowanej w ramach programu Erasmus+, pani Irene Rubio Bueno (Hiszpania) |
| Projekt dwóch prac magisterskich, wspólne prowadzenie badań, omawianie wyników, recenzja obu dysertacji | Zakład Chemii Stosowanej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu | cały rok akademicki | opiekun prac magisterskich; pani Natalii Kalinowskiej oraz pani Weroniki Kluski |

*obniżone pensum dydaktyczne z uwagi na staże naukowe (01.09.2016-23.12.2016 oraz 01.06.2017-08.09.2017) w ramach programu Erasmus+

6.2 Opracowane pomoce dydaktyczne

Autorstwo serii artykułów o olejach roślinnych i substancjach aktywnych:

- **Zielińska A.** *Oleje roślinne jako surowce kosmetyczne cz. I. Oleje owocowe: spożywać czy nakładać na twarz?* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2014, 1 (17), 50-52.
- **Zielińska A.** *Oleje roślinne jako surowce kosmetyczne cz. II. Oleje orzechowe: prawdziwa przekąska dla skóry!* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2014, 2 (17), 16-17.
- **Zielińska A.** *Oleje roślinne jako surowce kosmetyczne cz. III. Oleje palmowe: egzotyczny luksus...* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2014, 3 (17), 34-36.
- **Zielińska A.**, A. Feliczak-Guzik, M. Żebrowska. *Substancje aktywne pochodzenia roślinnego, stosowane w produktach kosmetycznych. α -bisabolol i inne surowce terpenowe.* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2014, 3 (17), 20-23.
- **Zielińska A.**, Dąbrowska M, Nowak I. *Olej z nasion Meadowfoam – „perła” wśród olejów roślinnych.* Polish Journal of Cosmetology, 2015, 18 (2).
- Dąbrowska M, **Zielińska A.**, Nowak I. *Olej Monoi – eliksir wysp Południowego Pacyfiku.* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2015, 1 (18), 48-51.
- **Zielińska A.**, Nowak I, Żebrowska M. *Substancje aktywne pochodzenia roślinnego, stosowane w produktach kosmetycznych. Kwercetyna, hesperydyna, trokserutyna i inne surowce flawonoidowe.* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2015, 1 (18), 54-57.
- **Zielińska A.**, Nowak I, Żebrowska M. *Substancje aktywne pochodzenia roślinnego, stosowane w produktach kosmetycznych. Ramnoza i inne cukry proste.* Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2015, 2 (22), 48-51.
- Dąbrowska M, **Zielińska A.**, Nowak I. *Lipid oxidation products as a potential health and analytical problem.* Chemik, 2015, 69 (2): 85-87.

6.3 Magistranci

- W latach 2015-2018 pełniłam rolę opiekuna 4 prac magisterskich studentów kierunku chemia, specjalność chemia kosmetyczna na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz w 2018 rolę opiekuna studentów zagranicznych.
- W latach 2016-2017 pełniłam rolę opiekuna 2 prac magisterskich studentów kierunku farmacja na Wydziale Farmacji Uniwersytetu w Coimbrze (Portugalia).

6.3 Popularyzacja nauki

W ramach mojej działalności popularyzatorskiej:

- brałam aktywny udział w *Nocy Naukowców* (lata 2013-2016) poprzez prowadzenie „*Labiryntu Piękności*” na Wydziale Chemii UAM;
- brałam aktywny udział w *Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki* (lata 2014-2017) poprzez prowadzenie „*Labiryntu Piękności*” na Wydziale Chemii UAM;

- prowadziłam warsztaty dla nauczycieli w ramach konferencji *Nowe wyzwania dydaktyki chemii* (28.02.2014);
- prowadziłam zajęcia laboratoryjne dla uczniów klas akademickich z poznańskiego VIII Liceum Ogólnokształcącego (22.05.2014).

7. Pozostałe informacje

7.1 Wybrane szkolenia

Brałam udział w licznych szkoleniach z technik i metod badawczych oraz z umiejętności miękkich, w tym między innymi:

- Dobra Praktyka Kliniczna GCP (*Good Clinical Practice Certificate, NIDA Clinical Trials Network*), Kraków.
- Szkolenie z zakresu pisania tekstów naukowych (Program Operacyjny Kapitał Ludzki, FNP Projekt *SKILLS*), Warszawa.
- Szkolenie z zakresu zarządzania zespołem naukowym (POKL, FNP Projekt *SKILLS*), Wrocław.
- Szkolenie z zakresu upowszechniania nauki (POKL, FNP Projekt *SKILLS*), Warszawa.
- Szkolenie z zakresu prezentacji wyników badań naukowych (POKL, FNP Projekt *SKILLS*), Kraków.
- Szkolenie z zakresu zarządzania projektami badawczymi (POKL, FNP Projekt *SKILLS*), Wrocław.
- Szkolenie „Jak mówić by Cię zrozumiano. Oferta nauki dla biznesu” (Poznański Park Naukowo-Technologiczny UAM).
- Szkolenie z zakresu komercjalizacji wyników prac badawczych (POKL, FNP Projekt *SKILLS*), Poznań.
- Szkolenie z zakresu przedsiębiorczości (POKL, FNP Projekt *SKILLS*), Warszawa.
- Certyfikowany kurs *Aspekty Medycyny Estetycznej i Przeciwwstarzeniowej; Odpowiednie podejście do pacjenta w parze z przedsiębiorczością* (Europejskie Centrum Szkoleniowe *FENICE*), Poznań.

7.2 Nagrody i wyróżnienia

- **Laureat Programu START 2021** Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla wybitnych młodych uczonych: <https://www.fnp.org.pl/konkurs-start-2021-rozstrzygniety/>
- **Redaktor Gościnny** Wydania Specjalnego pt. *Current Research on the Cytotoxicity of Drugs to Humans and Animals* w czasopiśmie *Toxics* (IF = 3,271; ISSN 2305-6304).
- **Członek Komitetu Organizacyjnego** Międzynarodowej Konferencji Farmaceutycznej 2020, Atlanta, USA (01.12.2019 –14.08.2020).

- **Ambasador Nauki** nadany przez Wydawnictwo Bentham Science **2019-2020** (Cambridge, UK).
- **II nagroda** za najlepszą prezentację ustną na konferencji międzynarodowej 6th *European Young Engineers Conference (EYEC)*, Warszawa (24.04.2017 – 26.04.2017).
- **I nagroda** za najlepszy poster naukowy na konferencji międzynarodowej 5th *European Young Engineers Conference (EYEC)*, Warszawa (20.04.2016 – 22.04.2016).
- **I nagroda** za najlepszy poster naukowy na konferencji międzynarodowej 18th *JCF-Frühjahrssymposium 2016*, Kiel, Niemcy (16.03.2016 – 19.03.2016).
- **I nagroda** za najlepszy poster naukowy na konferencji międzynarodowej 17th *JCF-Frühjahrssymposium 2015*, Münster, Niemcy (25.03.2015 – 28.03.2015).
- **Laureat** ogólnopolskiego Konkursu TransFormation.doc organizowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu systemowego *Wsparcie dla zarządzania badaniami i ich wynikami* (11.10.2015 – 24.10.2015).
- **Laureat** konkursu na najlepszy esej w języku angielskim *Role of diplomacy in creating the image of the state*. Nagroda: Stypendium na Międzynarodowy Letni Uniwersytet Dyplomacji 2015 (29.06.2015 – 03.07.2015).
- **Laureat** w konkursie o stypendium wyjazdowe na staże zagraniczne, zorganizowanego w ramach Programu Unii Europejskiej i Europejskiego Funduszu Społecznego *UAM: Unikatowy Absolwent = Możliwości*. Nagroda: Staż naukowy w Berlinie, Freie Universität Berlin, Niemcy (03.11.2014 – 30.01.2015).
- **Stypendium** Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu dla najlepszych doktorantów (2014 – 2018).
- **Stypendium** projakościowe Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu dla najlepszych doktorantów (2014 – 2018).

7.3 Podsumowanie dorobku naukowego

Osiągnięcie habilitacyjne:

5 publ. oryginalnych (w tym 3 z pierwszym autorstwem) z punktacją:

100 Pkt. Min.; 100 Pkt. Min.; 140 Pkt. Min.; 40 Pkt. Min.; 140 Pkt. Min., 140 Pkt. Min.

Wartość IF = **27,388**

Punktacja MNiSW = **660**

Liczba cytowań (wg *Web of Science*) = **149**

Dorobek naukowy poza osiągnięciem habilitacyjnym:

Łączna punktacja MNiSW = **3830**

Liczba publikacji = **46**

- w tym publikacje z pierwszym współautorstwem = **7**

(w tym 3 prace po **140 Pkt. Min.**; 1 praca po **100 Pkt. Min.**; 2 prace po **40 Pkt. Min.**; 1 praca po **70 Pkt. Min.**)

- w tym publikacje z IF = **37** (wartość IF: **167,995**; punktacja MNiSW: **3640**)

Indeks Hirscha (wg *Web of Science*) = **16**

Indeks Hirscha (wg *Scopus*) = **18**

Indeks Hirscha (wg *Google Scholar*) = **21**

Liczba cytowań/autocytowań (wg *Web of Science*): **645/569**

.....*Aleksandra Zielińska*.....

(podpis wnioskodawcy)