

Kraków, 27.04.2021 r.



UNIwersYTET  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

## OCENA

osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego  
i organizacyjnego dr nauk farmaceutycznych Doroty Danielak  
adiunkta w Katedrze i Zakładzie Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki  
Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
w związku z wszczęciem postępowania o nadanie stopnia doktora  
habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,  
w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Wydział Farmaceutyczny

Zakład Farmakokinetyki  
i Farmacji Fizycznej

Pani dr n. farm. Dorota Danielak ukończyła studia na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Tytuł magistra farmacji uzyskała w roku 2009 na podstawie pracy pt.: „Dostępność biologiczna gliklazu z minitabletek wolno i szybko uwalniających lek” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Tadeusza Hermanna. W roku 2014 uzyskała stopień doktora nauk farmaceutycznych nadany przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: ”Farmakokinetyka kliniczna klopidoogrelu i jego metabolitów z uwzględnieniem polimorfizmu genetycznego izoenzymu CYP2C19 i glikoproteiny P”, której promotorem był prof. dr hab. Franciszek Główka. Praca została wyróżniona uchwałą Rady Wydziału UMP. W międzyczasie, w roku 2009 dr Danielak uzyskała prawo wykonywania zawodu farmaceuty oraz w roku 2010 dyplom inżyniera na kierunku Biotechnologia, Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. W roku 2016 uzyskała dyplom specjalisty z zakresu farmacji klinicznej. Dr Dorota Danielak zatrudniona jest w Katedrze i Zakładzie Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu od roku 2009: początkowo na etacie asystenta do określonych zadań, później asystenta, a od roku 2015 do chwili obecnej na etacie adiunkta.

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 12 620 57 20

fax +48 12 620 57 30

1

farmakokinetyka@uj.edu.pl

## **Dorobek naukowo-dydaktyczny i organizacyjny**

Od początku kariery naukowej Habilitantka interesowała się farmakokinetyką kliniczną leków przeciwplatek. W wyniku badań prowadzonych przed uzyskaniem stopnia doktora, powstało kilka prac dotyczących opracowania metod analitycznych oznaczania klopidogrelu i jego metabolitów przy użyciu technik LC/MS/MS, HPCE oraz HPLC, a także prac poglądowych na temat czynników modyfikujących farmakokinetykę tego leku. Po uzyskaniu stopnia doktora, Habilitantka pogłębiła badania na tym lekiem, włączając do prowadzonych analiz badania farmakogenetyczne oraz ocenę wpływu chorób na farmakokinetykę klopidogrelu oraz tikagreloru. Drugim wątkiem podejmowanym w tym okresie były badania nad biodostępnością leków przeciwdepresyjnych. W ośmiu pracach niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr Danielak była pierwszym autorem. Wyniki swoich badań prezentowała także na 12 konferencjach krajowych i zagranicznych.

Badania Habilitantki finansowane były przez Narodowe Centrum Nauki. W większości projektów była wykonawcą, a w jednym, realizowanym w latach 2017-2018, kierownikiem. Ponadto Habilitantka kierowała wieloma grantami uczelnianymi dla młodych naukowców. Dr Danielak podnosiła swoje kompetencje w ramach stażów. Jeden z nich odbyła w firmie INNO-GENE S.A., podczas którego poznawała nowoczesne techniki stosowane w biotechnologii, drugi natomiast w Physiolution GmbH w Niemczech, dzięki któremu zaznajomiła się z zaawansowanymi technikami badania uwalniania leków. W wyniku badań prowadzonych w ramach tego stażu ukazały się dwie prace naukowe. Staż ten finansowany był z programu ORBIS, będącego częścią działania Marie Skłodowska-Curie Actions – Research and Innovation Staff Exchange koordynowanego przez prof. dr hab. Janinę Lulek. W ciągu ostatnich kilku lat, Habilitantka odbyła także liczne szkolenia, między innymi, z zakresu statystyki, spektrometrii mas, pozyskiwania funduszy unijnych, czy programowania w języku R i Python.

Habilitantka współpracowała nie tylko z wieloma jednostkami klinicznymi UMP, ale też z sektorem gospodarczym. Była wykonawcą projektów finansowanych przez firmy medac GmbH, Physiolution Polska Sp. z o.o., Celon Pharma S.A z Łomianek oraz Biofarm S.A. z Poznania

dotyczących badań uwalniania leków z form o przedłużonym uwalnianiu oraz tworzenia otwartego oprogramowania do analizy wyników testów ELISA.

Dorobek naukowy dr Doroty Danielak przed uzyskaniem stopnia doktora obejmuje 7 prac pełnotekstowych o łącznym IF równym 12,607 (154 punktów MNiSW), a po uzyskaniu stopnia doktora łącznie 18 prac (w tym 5 prac stanowiących osiągnięcie naukowe) (IF = 41,483 (798 punktów MNiSW)). W 8 pracach niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego była pierwszym autorem, w jednej tylko autorem korespondencyjnym. Sumaryczny impact factor opublikowanych prac wynosi 54,09 (952 punkty MNiSW), całkowita liczba cytowań wg Web of Science to 217, a indeks Hirscha wynosi 9. Najważniejsze czasopisma, w których ukazały się prace Habilitantki to Journal of Chromatography B, Journal of Clinical Pharmacology, European Journal of Clinical Pharmacology, Clinical Pharmacokinetics, European Journal of Pharmaceutical Sciences, czy Therapeutic Drug Monitoring. Osiągnięcia naukowe Habilitantki zostały docenione i w roku 2013 otrzymała stypendium doktorskie przyznane przez Uniwersytet Medyczny w Poznaniu oraz liczne naukowe nagrody zespołowe JM Rektora UMP. Z kolei, w roku 2016 Habilitantka otrzymała dydaktyczną nagrodę zespołową.

O pozycji Habilitantki w nauce światowej może świadczyć fakt, że jest członkiem Journal Topic Board w czasopiśmie Molecules oraz, że posiada na swoim koncie kilkadziesiąt recenzji prac wykonanych dla zagranicznych czasopism farmaceutycznych. Poza tym, była recenzentem w konkursach prac magisterskich oraz wniosków o finansowanie badań w ramach Studenckich Badań Naukowych w UMP. Brak w dorobku ekspertyz wykonanych na zamówienie instytucji publicznych czy prac w zespołach eksperckich lub konkursowych polskich i zagranicznych.

Od początku zatrudnienia, dr Dorota Danielak była zaangażowana w prowadzenie zajęć ze studentami farmacji, kosmetologii i analityki medycznej z przedmiotów chemia fizyczna, farmakokinetyka, fizykochemia w kosmetologii, farmakokinetyka z elementami terapii monitorowanej oraz ze studentami studiów anglojęzycznych z przedmiotów physical chemistry i advanced pharmacy practice. Habilitantka była opiekunem roku na kierunku PharmD oraz koordynowała praktyki wakacyjne studentów 4 roku tego kierunku. Opiekowała się też studentami przebywającymi w Jednostce w ramach Erasmus Summer Programme. Była opiekunem dziewięciu

i promotorem czterech prac magisterskich. Habilitantka jest współautorem dwóch rozdziałów w podręcznikach do nauczania farmacji fizycznej.

W latach 2016-2019 Habilitantka pracowała na rzecz Wydziału jako członek Wydziałowej Komisji ds. Nostryfikacji Dyplomów, w latach 2014/2015 była odpowiedzialna za organizację zajęć dydaktycznych w Katedrze, a roku 2018 pełniła rolę członka Komisji ds. Opracowania Programów Kursów dla Specjalizacji z zakresu farmacji klinicznej. Od roku 2019 jest członkiem Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych UMP. Uczestniczyła też w organizacji wizyt gości zagranicznych na Wydziale, a także prowadziła zajęcia dla uczniów amerykańskich szkół średnich przebywających w Polsce w ramach szkoły letniej „Future Docs Abroad”.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Osiągnięcie naukowe pt.: „Metody analizy populacyjnej w ocenie farmakokinetyki leków i ich metabolitów” stanowi zbiór 5 prac opublikowanych w latach 2017-2020 w impaktowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym o łącznym IF 13,831 (195 punktów MNiSW). Prace te były dotychczas cytowane 26 razy. Udział Habilitantki w tych pracach polegał na opracowaniu koncepcji pracy i metodologii badań, opracowaniu i walidacji modeli populacyjnych, współuczestniczeniu w przygotowaniu manuskryptów i odpowiedzi na uwagi recenzentów.

Celem prowadzonych przez Habilitantkę badań wchodzących w skład osiągnięcia było opracowanie strategii ograniczonej liczby próbek (LSS) do oceny ekspozycji na leki stosowane w kondycjonowaniu przed przeszczepieniem komórek krwiotwórczych na przykładzie etopozydu i treosulfanu oraz charakterystyka farmakokinetyki leków i ich aktywnych metabolitów przy użyciu modeli populacyjnych z uwzględnieniem zmiennych towarzyszących (tzw. covariates) na przykładzie kłopidogrelu i treosulfanu.

W pierwszej z prac (H1) stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego Habilitantka podjęła próbę opracowania LSS dla etopozydu u dzieci przed allogenicznym przeszczepieniem komórek krwiotwórczych (allo-HSCT). Badaniami objęto 28 dzieci w wieku od 6 do 18 lat z ostrą białaczką limfatyczną, które otrzymywały badany lek w postaci 4-godzinne wlewu dożylnego w dawce 60 mg/kg trzy dni przed planowanym przeszczepieniem.

Próbki krwi do analizy pobierano do 124 godzin. Badania te realizowane były w latach 1999-2010. Analizę populacyjną prowadzono w programie NONMEM, a w obliczeniach wykorzystano estymację warunkową pierwszego rzędu (FOCE-1) z interakcją. Indywidualne parametry farmakokinetyczne otrzymano przy użyciu metody Bayesa (opcja POSTHOC w NONMEM). Farmakokinetykę badanego leku najlepiej opisywał model dwukompartментowy z eliminacją zachodzącą z kompartментu centralnego zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu. Spośród badanych zmiennych towarzyszących tj. wiek, płeć, funkcja wątroby (ALT, ASP, stężenie bilirubiny), liczba białych krwinek, stężenie albuminy, poziom całkowitego białka krwi, klirens kreatyniny (dane od 70% chorych) i równocześnie stosowane leki przeciwgrzybicze, zmienność w wartościach klirensu powiązano jedynie z masą ciała i stężeniem bilirubiny. Zaproponowana strategia LSS została opracowana w oparciu o technikę regresji wielorakiej i krosvalidacji metodą *leave-one-out*. Ostatecznie spośród testowanych LSS wymagających pobrania do 4 próbek krwi, do wyznaczenia pola pod krzywą stężenie-czas (AUC) wybrano metodę wykorzystującą 3 stężenia mierzone w różnych czasach od rozpoczęcia wlewu ( $C_{6h}$ ,  $C_{12h}$  i  $C_{28h}$ ). Nowością w tej pracy było opracowanie po raz pierwszy LSS dla etopozydu po podaniu tego leku w wysokiej dawce w populacji pediatrycznej. Zaproponowana metoda może być z powodzeniem stosowana do optymalizacji dawkowania etopozydu w ramach terapii monitorowanej stężeniem leku we krwi. Wymagane są jednak dalsze badania kliniczne potwierdzające, że monitorowanie etopozydu w oparciu o AUC zwiększy skuteczność i zmniejszy ryzyko wystąpienia działań niepożądanych u chorych otrzymujących ten lek.

W pracy H2, opracowano LSS dla treosulfanu z wykorzystaniem symulacji komputerowych. Dane do analizy pochodziły z badań prowadzonych w latach 2007-2011 w grupie 15 chorych pediatrycznych (0,4-15 lat) z chorobami nowotworowymi i nienowotworowymi oczekujących na przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych (HSCT). Lek podawano w dawce 10, 12 lub 14 g/m<sup>2</sup> w postaci 1- lub 2-godzinnego wlewu dożylnego. Stężenia treosulfanu we krwi oznaczano przy pomocy techniki LC-MS/MS. Wśród testowanych współzmiennych znalazły się zaledwie dwie: masa ciała i płeć i tylko pierwsza z nich została włączona do ostatecznego modelu. Walidacja modelu obejmowała ocenę jego właściwości predykcyjnej

z zastosowaniem skorygowanego sprawdzenia wartości przewidywanych (pcVPC) oraz metodą bootstrapping, czyli losowania ze zwracaniem, w tym ostatnim przypadku przy użyciu Wings for NONMEM. Wyniki analizy populacyjnej przeprowadzonej w programie Monolix wykazały, że farmakokinetykę treosulfanu najlepiej opisywał model dwukompartamentowy z eliminacją zachodząca zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu. W oparciu o przeprowadzone analizy regresji wielorakiej zaproponowano różne strategie pobierania próbek do wyznaczenia  $AUC_{0-\infty}$  badanego leku w zależności od podanej dawki i czasu trwania wlewu, wymagające pomiaru 2 lub 3 stężeń leku. Zaproponowaną w tej pracy strategię optymalizacji terapii treosulfanem należy jednak traktować z ostrożnością, ze względu na stosunkowo małą populację chorych objętych tymi badaniami.

W trzeciej, z kolei, pracy wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego Habilitantki (praca H3), oceniano wpływ czynników genetycznych na farmakokinetykę populacyjną kłopidogrelu i jego aktywnego metabolitu. Badania przeprowadzono w grupie 63 pacjentów otrzymujących kłopidogrel w dawce 75 mg przez minimum 7 dni przed zabiegiem koronarografii lub przezskórnej interwencji wieńcowej. Na podstawie danych literaturowych Habilitantka założyła, że lek wykazuje kinetykę liniową. Wydaje się jednak, że należało raczej przetestować konkurencyjne, do zastosowanego, modele z eliminacją nieliniową i w oparciu o kryteria dobroci dopasowania wybrać właściwy model. Opracowując model populacyjny, oceniano wpływ zmiennych towarzyszących, takich jak: wiek, masa ciała, BMI, płeć, współistniejąca cukrzyca, równoczesne stosowanie PPI lub statyn oraz obecność alleli CYP2C19\*2, \*17 i \*1G, a także genotypu 3435TT. Przeprowadzona analiza wykazała, że spośród badanych współzmiennych, tylko obecność allelu CYP2C19\*2 wiązała się ze słabszą konwersją leku macierzystego do aktywnego metabolitu H4. Co ciekawe, polimorfizm w obrębie genu kodującego ten metabolit nie wpływał na wielkość AUC leku macierzystego, podczas gdy wielkość tego parametru była znacznie niższa w przypadku metabolitu H4. Przeprowadzona analiza potwierdziła także brak wpływu allelu \*17 na farmakokinetykę H4 oraz polimorfizmu glikoproteiny P jako niezależnego czynnika na farmakokinetykę leku macierzystego.

Celem pracy H4 była ocena zależności pomiędzy ekspozycją treosulfanu i jego aktywnego metabolitu monoepoksytransformeru (S,S-EBDM) oraz

zmienności w farmakokinytyce tych związków. Badania farmakokinytyczne prowadzono w latach 2017-2011 na 14 dzieciach z chorobami nowotworowymi i nienowotworowymi, którym podawano treosulfan w dawce dziennej 10-14 g/m<sup>2</sup>. Stężenia leku macierzystego i metabolitu oznaczano metodą LC-MS/MS. Wydaje się, że dane te wykorzystano wcześniej w pracy H2 do opracowania LSS. W ramach badań opisanych w pracy H4, Habilitantka opracowała model populacyjny dla leku macierzystego i jego metabolitu, zakładając liniowość procesów farmakokinytycznych. Tego typu modelu nie przedstawiono do tej pory w literaturze. Przeprowadzone badania wykazały dużą zmienność w farmakokinytyce badanych związków, szczególnie w przypadku klirensu S,S-EBDM oraz słabą korelację pomiędzy ekspozycją na treosulfan i jego metabolit. Wynika stąd, że monitorowanie stężeń metabolitu treosulfanu może okazać się przydatne w optymalizacji terapii z wykorzystaniem tego leku. Należy jednak pamiętać, że wnioski wyciągane w oparciu o model populacyjny opracowany na podstawie danych pochodzących od 14 osobników mogą być obarczone błędem.

W ostatniej z prac włączonych do cyklu H5 badano farmakokinytykę i dystrybucję do mózgu treosulfanu i jego metabolitu u szczurów po podaniu dootrzewnowym. Do analizy danych zastosowano podejście populacyjne przy użyciu programu NONMEM. Przeprowadzone badania wykazały, że obydwa związki słabo przenikają do mózgu oraz, że klirens leku macierzystego jest znacznie niższy u samców niż u samic szczura. Zjawisko to Autorzy pracy tłumaczą różnicami w ekspresji transporterów z rodziny OATP, chociaż brak jest danych literaturowych na temat znaczenia tych transporterów w farmakokinytyce treosulfanu. Nieco mylące jest oznaczenie stałej szybkości wchłaniania symbolem  $k_{12}$ . W większości prac farmakokinytycznych symbol ten zarezerwowany jest dla stałej szybkości dystrybucji w modelu dwukompartmetytowym. Szkoda, że stosując destrukcyjną strategię pobierania próbek nie oznaczono stężeń badanych związków także w innych tkankach, co umożliwiłoby opracowanie modelu fizjologicznego treosulfanu.

Z analizy prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynika, że Habilitantka jest wysokiej klasy specjalistką z zakresu modelowania populacyjnego. W ramach prowadzonych prac, samodzielnie opracowała i zwalidowała kilka nowych modeli populacyjnych dla badanych leków w programie NONMEM lub Monolix, uwzględniając ich aktywne metabolity,

zarówno u pacjentów pediatrycznych, jak i w badaniach na modelu zwierzęcym. Jako pierwsza na świecie zaproponowała model uwzględniający farmakokinetykę aktywnego monoepoksytransformeru treosulfanu, EBDM. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują nowe kierunki w optymalizacji terapii z wykorzystaniem badanych leków, sugerując, że ocena genotypu CYP2C19 może być pomocna w optymalizacji terapii klopidoogrelem, a zaproponowane, na podstawie modeli farmakokinetycznych, strategie ograniczonej liczby próbek dla etopozydu i treosulfanu mogą być stosowane w kondycjonowaniu przed zabiegiem HSCT u dzieci, celem zwiększenia skuteczności i bezpieczeństwa leczenia.

### **Podsumowanie**

Biorąc pod uwagę wartościowy dorobek naukowy, który został istotnie zwiększony po uzyskaniu stopnia doktora, duże osiągnięcia dydaktyczne i szeroką działalność organizacyjną na rzecz macierzystego Wydziału, a także wiedzę i doświadczenie zdobyte w ośrodku zagranicznym, należy uznać, że dr Dorota Danielak jest doskonale zapowiadającym się pracownikiem naukowo-dydaktycznym. Na szczególną uwagę zasługują umiejętności Habilitantki w zakresie posługiwania się zaawansowanym oprogramowaniem do analizy populacyjnej, rzetelność prowadzonych badań oraz wnikliwość w interpretacji ich wyników. Wydzielone zagadnienie, stanowiące część prac zbiorowych, jest wyraźnie zaznaczonym, indywidualnym wkładem Habilitantki i w istotny sposób przyczynia się do rozwoju dyscypliny nauki farmaceutycznej. W oparciu o przedstawione wyżej fakty stwierdzam, że zarówno oceniane osiągnięcie naukowe, jak i cały dorobek naukowo-dydaktyczny i organizacyjny spełniają kryteria określone w art. 219 ust. 1, pkt. 1-2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.), a Kandydatka jest w pełni przygotowana do samodzielnej pracy naukowej. Dlatego też z pełnym przekonaniem rekomenduję nadanie dr n. farm. Dorocie Danielak stopnia doktora habilitowanego.

prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Wyska