



**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM MEDICUM**

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej  
Wydział Farmaceutyczny  
Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
30-683 Kraków, ul. Medyczna 9  
e-mail: monika.l.dabrowska@uj.edu.pl

Kraków, 11 styczeń 2021

**Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym  
oraz ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego**

**dr n. farm. Natalii Miękus-Purwin  
adiunkta w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu  
Medycznego**

w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Oceny dokonano na zlecenie Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Przedmiotem postępowania jest wniosek zainteresowanej z dnia 1 czerwca 2020r. o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Pani dr Natalia Miękus-Purwin jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej (obecnie Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego) w Gdańsku. Pracę magisterską pt.: "Generation of antibodies specific for the phosphorylated form of indoleamine 2,3-dioxygenase, a master regulator of the immune system" zrealizowała pod kierunkiem prof. dr hab. Antoniego Nasala w Perugii we Włoszech, w ramach wymiany Socrates/Erasmus na Università degli studi di Perugia, Departamencie Medycyny Eksperymentalnej i Biochemii, uzyskując dyplom magistra farmacji w 2011r. Następnie, w 2015r. uzyskała stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych nadany uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Optymalizacja metod bioanalitycznych podczas oceny potencjalnych biomarkerów nowotworów pochodzenia neuroendokrynnego” wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej rodzimego Wydziału, której promotorem był prof. dr hab. Tomasz Bączek.

Przebieg pracy zawodowej dr Miękus-Purwin początkowo związany był z Katedrą Fizjologii Zwierząt i Człowieka Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie pracowała na stanowisku specjalisty (od 11.2015 do 09.2016r.), a następnie adiunkta (10.2016-02.2020r.). Od 02.2020r. do chwili obecnej Habilitantka jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.



## UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

Dr Natalia Purwin-Miękus jeszcze przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora odbyła liczne staże naukowe. Realizowała krajowe miesięczne praktyki w Zakładach Farmaceutycznych „Polpharma S.A.” w Starogardzie Gdańskim (08.2009r; 09.2013r.) oraz w Dziale Badań Klinicznych i Monitorowania Zdarzeń Niepożądanych w firmie Servier w Warszawie (08-09.2015r.). Ponadto, we wrześniu 2006r. realizowała miesięczne praktyki laboratoryjne na Wydziale Biologii i Biotechnologii w Portsmouth w Wielkiej Brytanii. Od 03. do 08.2010r., w ramach programu „LLP-Erasmus”, prowadziła badania w Perugii we Włoszech. W 2011r. odbyła trzymiesięczny staż w Martin-Luther-Universität w Halle w Niemczech, natomiast w terminie 05.2012-05.2013r. przebywała na rocznym stypendium w Hiszpańskim Narodowym Centrum Badań Nad Rakiem w Madrycie. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, w 2019r., w ramach stażu podoktorskiego, realizowała tematykę związaną z ekstrakcją leków z próbek biologicznych w Katedrze Chemii na Uniwersytecie w Seulu w Korei Południowej.

### Ocena osiągnięcia naukowego

Głównym osiągnięciem naukowym Habilitantki, stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zgodnie z art. 219 ust.1. pkt 2b Ustawy o osiągnięciach naukowych albo artystycznych, jest monotematyczny cykl 6 prac, na które składa się 5 publikacji oryginalnych i 1 praca pogładowa, pod wspólnym tytułem „Nowe podejścia analityczne do oznaczania wybranych amin biogennych w próbkach biologicznych jako biomarkerów wytypowanych jednostek chorobowych”. Przedłożone opracowanie stanowi spójną całość i jest konsekwencją dotychczasowego kierunku badań Habilitantki. Prace zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym w latach 2016-2020, co wskazuje na niewątpliwą aktualność zaprezentowanych wyników. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF wynosi 25,634, co odpowiada 360 pkt. MNiSW. Na podkreślenie zasługuje fakt, że średnia wartość IF na pracę wynosi 4,272 (1,646 do 8,428). Wszystkie prace są wieloautorskie, w pięciu publikacjach Kandydatka jest pierwszym autorem, a w dwóch pracach autorem korespondencyjnym, co świadczy o wiodącej roli Kandydatki w opracowaniu hipotezy i koncepcji badawczej oraz redagowaniu publikacji. Wskazuje również na dobre przygotowanie Habilitantki do przyszłej działalności naukowej jako samodzielnego pracownika akademickiego. Na jednoznacznie pozytywną ocenę zasługuje duża zgodność tematyczna całościowego dorobku naukowego Habilitantki z tematyką osiągnięcia habilitacyjnego. Do dokumentacji dołączone zostały oświadczenia współautorów potwierdzające ich udział w powstaniu prac. Wyodrębniony cykl publikacji stanowią prace już opublikowane (recenzowane i zaakceptowane), a rezultaty przedstawionych badań nad optymalizacją metod ekstrakcji i oznaczania biomarkerów w wybranych jednostkach chorobowych, posiadają duże znaczenie poznawcze, jak i znajdują praktyczne zastosowanie w praktyce klinicznej, w procesie monitorowania przebiegu procesu chorobowego.

Tematyka przedstawionego cyklu publikacji skoncentrowana jest wokół kwestii wypracowania komplementarnego podejścia do szeroko pojętej optymalizacji strategii





## UNIwersytet Jagielloński COLLEGIUM MEDICUM

analitycznych, związanych z ekstrakcją i prekoncentracją biomarkerów małowcząsteczkowych z grupy amin biogennych z próbek biologicznych przed ich analizą elektroforetyczną,

Tytułem wprowadzenia Habilitantka przedstawia omówienie dotyczące nowego, kompleksowego podejścia do procesu leczenia obejmującego m.in. projektowanie cząsteczek o potencjalnym działaniu terapeutycznym, czy też nowych punktów uchwytu dla leków. Wskazuje na istotność opracowania nowych metod diagnostycznych, które mogą stanowić użyteczne narzędzie pozwalające na odpowiednio czule i precyzyjne oznaczanie biomarkerów w złożonych matrycach biologicznych, co pozwoli na szybkie rozpoznanie i odpowiednie celowane leczenie pacjenta oraz wdrożenie spersonalizowanej terapii. Następnie omawia potencjalne biomarkery, które mogą stanowić czynnik prognostyczny w terapii nad pacjentem cierpiącym na, trudny do zdiagnozowania we wczesnym stadium, nowotwór neuroendokryny (NET). Wskazuje na czynniki mogące wpływać na poziom biomarkerów, dające mylne obrazy kliniczne. Habilitantka podkreśla celowość badań mających na uwadze opracowywanie nowych metod analitycznych pozwalających w końcowym efekcie, na przygotowanie testu biochemicznego cechującego się odpowiednią czułością i specyficznością oraz uwzględniającego wyposażenie aparaturowe laboratoriów. Omawia również ograniczenia wynikające z zastosowania różnych detektorów w metodach chromatograficznych i elektromigracyjnych. W dalszej części wprowadzenia Habilitantka opisuje technikę elektroforezy kapilarnej (CE) i jej modyfikacje, jako narzędzia bioanalityczne, które wpisują się w trend tzw. „zielonej chemii”.

Kontynuując wprowadzenie, Habilitantka szczegółowo opisuje problematykę związaną z przygotowaniem próbek biologicznych do dalszej analizy. Wskazuje na istotność tego etapu, mogącego w dużym stopniu rzutować na końcowe efekty eksperymentu medycznego. Procedura ekstrakcyjna jest niezwykle istotna w przypadku stosowania technik elektromigracyjnych, które ze względu na niską wykrywalność wymagają stosowania efektywnych metod ekstrakcji analitów z próbek biologicznych. Pani Doktor omawia techniki ekstrakcji do fazy ciekłej (liquid-phase extraction, LLE) oraz jej odmiany tj. mikroekstrakcję ciecz-ciecz (liquid-phase microextraction, LPME), dyspersyjną mikroekstrakcję ciecz-ciecz (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) oraz techniki ekstrakcji do fazy stałej (solid-phase extraction, SPE) oraz jej odmianę - mikroekstrakcję do fazy stacjonarnej (solid-phase microextraction, SPME).

W dalszej części autoreferatu dr Natalia Miękus-Purwin omawia cel prac wchodzących w cykl osiągnięcia naukowego. Wybór tematyki i celowość badań Habilitantka poprzedziła pogłębioną analizą literatury przedmiotu. Uzasadniła wybór strategii badawczej, opierający się na fakcie, że informacja o kilku biomarkerach, a nie o pojedynczych związkach, jest w stanie dostarczyć pełnego obrazu niezbędnego do prawidłowej diagnozy, monitorowania przebiegu leczenia czy wyboru terapii, w aspekcie trudnych do wykrycia nowotworów, do których należą guzy NET, jak również złożonych stanów patofizjologicznych (jak udar mózgu), którym towarzyszą zmiany w poziomach ważnych biologicznie, endogennych związków. Dopiero analiza całego panelu amin biogennych, ich prekursorów i metabolitów pozwala otrzymać



## UNIwersytet Jagielloński Collegium Medicum

pełny obraz przemian na poziomie molekularnym i określić procesy biochemiczne, zachodzące w warunkach fizjologicznych i patofizjologicznych.

Habilitantka wymienia cele realizowane i optymalizowane w ramach osiągnięcia naukowego, oparte o wspomniane techniki ekstrakcji podczas jednoczesnej izolacji i wzbogacenia *off-line* DA, A, NA, 5-HT, L-DOPA, L-Tyr i L-Tryp oraz metabolitów tj. HVA, VMA, M, NM, DOPAC, DHPG, MHPG w próbkach moczu przed analizą, oraz łączące zastosowanie cieczy jonowych oraz SPME podczas izolacji i wzbogacania wybranych amin biogennych oraz L-Tyr i L-Tryp przed ich dalszą analizą z próbek ludzkiego moczu i zwierzęcej tkanki nerwowej oraz kolejne, pozwalające na wzbogacenie panelu ważnych neuroprzekaźników w próbkach biologicznych metodami *on-line* podczas rozdzielania elektroforetycznego. W dalszym etapie Habilitantka zaplanowała wykorzystanie zoptymalizowanych metod ekstrakcyjnych w połączeniu z metodą MEKC-DAD do śledzenia zmian w poziomie amin biogennych, ich metabolitów oraz aminokwasów w rzeczywistych próbkach biologicznych otrzymanych od pacjentów, u których wystąpił udar krwotoczny lub niedokrwienny lub ze zdiagnozowanymi nowotworami NET.

Zagadnienia związane z zastosowaniem strategii analitycznych do izolacji amin z próbek moczu i ich aplikacje kliniczne były przedmiotem badań Habilitantki opisanych w pracach H1 i H2. Zaproponowane poszerzenie biochemicznej oceny patofizjologicznego stanu o związki z grupy amin biogennych u pacjentów z NET [H1] lub po przebytych udarze [H2] może nie tylko zwiększyć czułość i specyficzność testów diagnostycznych, ale także ułatwić monitorowanie przebiegu choroby. Ważnym etapem badań, było zapewnienie stabilności amin biogennych w moczu, zapewnienie wydajnej ekstrakcji i wzbogacenie analitów w materiale biologicznym, usunięcie związków balastowych oraz pominięcie procesu konwersji chemicznej. W badaniach Habilitantka uwzględniła również wpływ czynników tj. dieta pacjenta, choroby towarzyszące, stosowana farmakoterapia oraz zabiegi medyczne. Jednoczesna izolacja z próbki moczu 7 biomarkerów stanowiła duże wyzwanie analityczne, głównie ze względu na różnice właściwości fizykochemicznych [H1]. W celu otrzymania właściwych wniosków z otrzymanego zbioru danych eksperymentalnych zastosowano Hierarchiczną Analizę Skupień (HCA), która potwierdziła większą efektywność metody DLLME względem LLE i SPE. W kolejnym etapie badań zvalidowano opracowaną metodę DLLME-MEKC-DAD, którą następnie wykorzystano do pilotażowej analizy biomarkerów w próbkach moczu pacjentów onkologicznych. Analiza uzyskanych danych wskazała, że dla celów diagnostycznych jednoczesne oznaczanie A, NA i L-DOPA jest bardziej wiarygodne niż oznaczanie pojedynczych biomarkerów. Równocześnie, 5-HT, ze względu na wpływ leczenia, diety lub zabiegów operacyjnych na jej poziom, nie powinna być stosowana jako biomarker dla poddanych analizie guzów NET u dzieci.

W następnym etapie badań [H2], Habilitantka przeprowadziła pilotażowe analizy stężeń DA, A, NA, 5-HT, L-DOPA, L-Tyr i L-Tryp w moczu pacjentów po przebytych udarze krwotocznym lub niedokrwiennym. Wyniki tych badań potwierdziły, że monitorując poziom neuroprzekaźników z grupy amin biogennych oraz aminokwasów prekursorowych w organizmie możliwe jest monitorowanie leczenia pacjentów, co pozwala zapobiegać





## UNIwersytet Jagielloński Collegium Medicum

wystąpieniu powikłań, zarówno sercowo-naczyniowych jak i ze strony ośrodkowego układu nerwowego. Uzyskane wyniki są niezwykle cenne, zwłaszcza w kontekście doniesień naukowych o istniejącym lecz wciąż słabo poznanym związku między udarem a zaburzeniami w głównych szlakach neuroprzekaznikowych.

Celem kolejnych badań, zaprezentowanych w publikacji H3, było opracowanie nowej procedury analitycznej wykorzystującej cieczy jonowe (ILs) jako dodatek do fazy desorbującej aminy biogenne zaadsorbowane na złożach SPME w procesie mikroekstrakcji i prekoncentracji z próbek moczu. Do badań wybrano tetrafluoroboran 1-butylo-3-metyloimidazoliowy (IL1), tetrafluoroboran 1-etylo-3-metyloimidazoliowy (IL2) oraz bistrifluorometanosulfonimid 1-etylo-3-metyloimidazoliowy (IL3). Wykazano, że dodatek każdej z cieczy spowodował wzrost wydajności ekstrakcji oznaczanych amin biogennych, a ponadto cieczy z anionem tetrafluoroboranowym, były bardziej efektywne od cieczy z anionem o bardziej złożonej budowie (IL3). Ciecz najbardziej hydrofobowa (IL2) wykazała najwyższą przydatność w analizach. Zastosowane warunki pozwoliły na wzrost wydajności ekstrakcji dla amin biogennych i aminokwasów prekursorowych od 9-krotnego dla L-Tryp, aż do 21-krotnego dla A. Opracowana metoda została zgłoszona do opatentowania i uzyskała ochronę patentową na terenie RP (P.422788; „Sposób izolacji amin biogennych z moczu”), a wniosek o ochronę na terenie Unii Europejskiej jest aktualnie rozpatrywany.

W kolejnym etapie badań Habilitantka postanowiła sprawdzić opracowaną procedurę IL-SPME-MEKC-DAD do analizy tkanki zwierzęcej (mózgu szczurów) [H4] w kierunku izolacji i prekoncentracji amin biogennych z grupy katecholamin i indoloamin, ich prekursorów i metabolitów. Stwierdzono, że wzbogacenie analitów w próbce z zastosowaniem IL-SPME, pozwala na 1,8-krotny wzrost wartości EF dla DA w porównaniu z tą uzyskaną po użyciu DLLME. Dla A i L-Tyr wartości te były również wyższe, natomiast dla 5-HT zaproponowana metodyka nie zwiększyła efektywności ekstrakcji. Procedura IL-SPME pozwoliła wyizolować z matrycy również L-Tryp, co nie było możliwe w przypadku większości stosowanych uprzednio procedur. Reasumując, Habilitantka wykazała, że odpowiednią strategią analityczną do jednoczesnej ekstrakcji z tkanki nerwowej wybranych amin biogennych, ich metabolitów i aminokwasów prekursorowych jest IL-SPME-MEKC-DAD. Na uwagę zasługuje fakt, że opracowana metoda może stanowić alternatywę dla stosunkowo drogich testów immunoenzymatycznych, mniej dostępnych detektorów, czy też większej ilości materiału badawczego. Otrzymane wzbogacenie *off-line* analitów w materiale biologicznym z wykorzystaniem cieczy jonowych pozwala na rozszerzenie aplikacji metod mikroekstrakcyjnych angażujących „rozpuszczalniki projektowalne” w nowe obszary nauk podstawowych i praktykę kliniczną.

Uzyskane wyniki analiz amin biogennych w moczu [H1-H3] oraz w tkance mózgowej [H4] stały się dla Habilitantki przyczynkiem do wzbogacenia panelu analitów o kolejne metabolity szlaku przemian L-Tyr [H5]. Analizie poddano diagnostyczne biomarkery małowzrastkowe tj. glikol dihydroksyfenylowy (DHPG), glikol 3-metoksy-4-hydroksyfenylowy (MHPG), VMA, HVA, NM, M i DOPAC. Szerokie spektrum zastosowań każdego z biomarkerów, skłoniło Habilitantkę do zaproponowania nowych strategii



## UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

ekstrakcyjnych i prekoncentracyjnych służących jednoczesnej analizie tak różniącego się fizykochemicznie zbioru. Dr Miękus-Purwin wybrała spośród opisanych wcześniej 25 różnych procedur ekstrakcyjnych, a także oceniła przydatność metod opartych o DLLME, SPE oraz SPME do izolacji metabolitów amin biogennych z próbek moczu. Do analizy uzyskanych danych eksperymentalnych zastosowano HCA, która wykazała, że najbardziej efektywną procedurą do przeprowadzenia równoczesnej ekstrakcji i prekoncentracji DHPG, HVA, DOPAC i NM jest C18-SPE z metanolem jako eluentem, natomiast do izolacji M i MHPG - SPME-PS-DVB z metanolem jako odczynnikiem desorbującym. Stwierdzono ponadto, że dodatek cieczy jonowej (IL3) do roztworu desorbującego zwiększa stopień wzbogacenia M w próbce moczu, natomiast do izolacji VMA, MHPG, HVA i DOPAC nie powinny być stosowane testowane ciecze jonowe.

W przedstawionych w ramach osiągnięcia naukowego pracach, Habilitantka zaprezentowała zarówno strategię izolacji i wzbogacania *off-line* substancji objętych planem badań w próbkach, jak i prekoncentracyjne *on-line*. Dodatkowo jedno z nich, spiętrzanie, zostało z powodzeniem wykorzystane we wszystkich badaniach. Kandydatka uzyskała także dodatkowe wzmocnienie sygnału w każdej z metod CE, poprzez wprowadzenie do kapilary niewielkiej strefy wodnej [H1-H5].

Zebrane w formie pracy przeglądowej, metody przygotowania próbek biologicznych do analizy separacyjnej CE, w oparciu o techniki wzbogacania analitów w próbkach *off-line* oraz *on-line* stały się tematem przewodnim kolejnej pracy [H6]. Habilitantka prezentuje w niej potencjalnie nowe metody *on-line* do jednoczesnej izolacji, wzbogacania i separacji analitów w złożonych matrycach, w aspekcie oznaczania biomarkerów oraz aktywnych substancji w próbkach biologicznych. W publikacji tej zawarto również opis metod umożliwiających prekoncentrację analitów w kapilarze podczas rozdzielania elektroforetycznego i po nastrzyku próbki do kapilary, ze szczególnym uwzględnieniem technik stosowanych dla próbek o wysokiej przewodności elektrycznej, poprzez ogniskowanie zawartych w nich analitów w wyniku rozpadu miceli, spiętrzanie analitów na drodze przeniesienia z miceli do rozpuszczalnika organicznego, czy dynamiczne krzyżowanie pH.

Przeprowadzone przez Habilitantkę badania są nowatorskie, rzetelne, bardzo obszerne i starannie udokumentowane. Wyniki pilotażowych badań stały się podstawą do wytypowania panelu potencjalnych, nowych biomarkerów biochemicznych, pomocnych w opisie, diagnostyce lub monitorowaniu przebiegu leczenia pacjentów z trudnymi do diagnozy i monitorowania jednostkami chorobowymi. Uzyskane wyniki wnoszą istotny wkład w rozwój współczesnych metod diagnostyczno-terapeutycznych oraz zawierają znaczący sens naukowy, potencjał aplikacyjny i ważny wymiar społeczny. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że prezentowany w publikacji H3 protokół izolacji amin biogennych w próbkach moczu został objęty ochroną patentową (nr zgłoszenia P.422788).

Podsumowując, po zapoznaniu się z osiągnięciem naukowym p. dr Natalii Miękus-Purwin pragnę stwierdzić, że dobrze wykorzystwała ona umiejętności naukowe zarówno w odniesieniu do prac eksperymentalnych, jak i analizy otrzymanych wyników. Uważam, że Habilitantce udało się w pełni zrealizować zamierzony cel badań. Przedstawione do recenzji





## UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

osiągnięcie naukowe bez wątpienia stanowi znaczny wkład na drodze poszukiwania rozwiązań diagnostycznych pozwalających monitorować zarówno przebieg terapii pacjenta, jak i progresję choroby. W związku z powyższym, potwierdzam znaczny wkład Autorki w rozwój dyscypliny naukowej nauki farmaceutycznej.

### Ocena aktywności naukowej

Aktywność naukowa dr Natalii Miękus-Purwin obejmuje okres od roku 2013, w którym ukazała się jej pierwsza współautorska praca, do chwili obecnej. Dotychczasowy dorobek naukowy, na który składa się 25 artykułów opublikowanych w czasopiśmie z listy Journal Citation Reports (JCR) o łącznym IF wynoszącym 69,567 (czemu odpowiada 1281 pkt. MNiSW), oceniam jako znaczny. Również pozostałe wskaźniki „naukometryczne” tj. indeks H równy 6 i łączna liczba cytowań 99 (wg bazy *Web of Science Core Collections* z dnia 25.05.2020) potwierdzają znaczenie dorobku Habilitantki. Dr Miękus-Purwin jest również współautorką 2 rozdziałów w monografiach naukowych. O aktywności Habilitantki świadczy także udział w konferencjach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym, podczas których prezentowała tematykę swoich badań w formie wystąpień ustnych (4) oraz w formie posterów (23).

Analizując ścieżkę zawodową dr Miękus-Purwin należy zwrócić szczególną uwagę na logiczną konsekwencję doboru i rozwoju tematyki badawczej. Rezultaty jednych badań stanowią inspirację do podjęcia nowych wyzwań, natomiast umiejętność łączenia i wykorzystania metod eksperymentalnych z teoretycznymi umożliwia Habilitantce prowadzenie krytycznej analizy wyników oraz racjonalne wyciąganie wniosków. Potencjał publikacyjny Dr Natalii Miękus-Purwin wraz z uzyskanymi wynikami badań naukowych jednoznacznie potwierdzają ogromną determinację naukową, pracowitość, wysoką dojrzałość i dociekliwość badawczą, jak i umiejętność stawiania i rozwiązywania problemów natury naukowej.

Początkowa działalność naukowa Kandydatki, realizowana w ramach pracy magisterskiej realizowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Antoniego Nasala, związana była z analizą przeciwciał specyficznych dla fosforylowanego enzymu - dioksygenazy indoloaminy. Analizy wykorzystujące techniki ELISA, Western blotting, immunoprecypitację, czy oczyszczanie komórek dendrytycznych i PCR prowadzono we Włoszech w ramach programu „LLP-Erasmus” w Departamencie Medycyny Eksperymentalnej i Biochemii, Sekcji Farmakologii. Pani Doktor ukończyła również kurs „Corretto Approccio All’Attiva’ Di Sperimentazione Animale” organizowany przez Stabulario Centralizzato Universita Degli Studi Di Perugia dający jej uprawnienia do prowadzenia prac badawczych angażujących małe zwierzęta laboratoryjne. Za całokształt działalności naukowo-edukacyjnej podczas studiów otrzymała nagrodę “Primus inter Pares” przyznaną przez Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz nagrodę Profesora Janickiego dla najlepszego absolwenta Wydziału Farmaceutycznego (w 2011r.).



## UNIwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Podczas pierwszego roku Studiów Doktoranckich Habilitantka odbyła trzymiesięczne stypendium w Halle, w Niemczech, na Martin-Luther-Universität, w ramach którego prowadziła badania związane z wykorzystaniem technik LC-MS, MALDI-MS w proteomice. Obejmowały one analizy produktów degradacji kolagenu przez metaloproteinazy, enzymy proteolityczne istotne w procesie degradacji elementów macierzy zewnątrzkomórkowej, typowane jako cząsteczki biorące udział w procesach wzrastania, tworzenia przerzutów i progresji nowotworów. Otrzymała również roczne stypendium naukowe w ramach umowy Offsetowej z Hiszpanią EADS CASA (Eurocopter and Airbus Operations). W Hiszpańskim Narodowym Centrum Badań Nad Rakiem (CNIO, Spanish National Cancer Research Centre) w Madrycie (05.2012-05.2013) realizowała tematykę związaną z aplikacją proteomiki ilościowej w badaniach chorób nowotworowych, głównie analizie biomarkerów proteomicznych z tkanek pozyskanych z modeli zwierzęcych raka piersi i raka trzustki. Zoptymalizowana przez Habilitantkę metodyka została wprowadzona do badań różnicujących zdrowe fosfoproteomy od patologicznie zmienionych w laboratorium proteomicznym CNIO. W 2013r. w ramach Akademii Polpharmy odbyła miesięczne praktyki w Dziale Formulacji Zakładów Farmaceutycznych Polpharma S.A., a w 2015r. miesięczny staż w ramach Akademii Servier w Dziale Badań Klinicznych i Monitorowania Zdarzeń Niepożądanych w Warszawie, gdzie poszerzała swoją wiedzę w aspekcie formulacji leków oraz badań klinicznych. Pani Doktor brała również czynny udział w pracach realizowanych w ramach projektu naukowego pod kierownictwem dr hab. Aliny Plenis (Nr wniosku N405 024340) pt. „Porównawcza analiza proteomiczna hormonalnie czynnych guzów neuroendokrynych wspomagana analizą QSRR” prowadzonego w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed, za które uzyskała (w 2014r.) stypendium, w ramach 6-ej edycji projektu "InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów", przyznawane w ramach Priorytetu VIII Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Działanie 8.2, Poddziałanie 8.2.2 „Regionalne Strategie Innowacji”, finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, budżetu państwa oraz budżetów samorządów województw. Otrzymała również finansowanie MNiSW na prowadzenie badań naukowych przyznane ze źródeł GUMed dla młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich (Nr MN0153/506).

Po uzyskaniu stopnia naukowego Pani Doktor uzyskała finansowanie z Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu Miniatura I na prowadzenie badań naukowych pt. „Usprawnienie analizy śladowych ilości neuroprzekaźników w materiałach biologicznych z wykorzystaniem sprzężenia mikroekstrakcji wspomaganiej cieczami jonowymi i elektroforezy kapilarnej z laserowo wzbudzaną fluorescencją” (Nr 2017/01/X/ST4/00225). Efektem przeprowadzonych analiz są prace opublikowane w renomowanych czasopismach (International Journal of Molecular Sciences i Talanta), a poruszana tematyka badawcza stanowi fragment dorobku habilitacyjnego. Habilitantka uzyskała także środki MNiSW na prowadzenie badań naukowych ze źródeł GUMed służących rozwojowi młodych naukowców pt. „Wczesna diagnostyka różnicowa neuroblastoma z wykorzystaniem zaawansowanych technik mikroekstrakcyjnych” (Nr MN01-0316/08/506). Pełniła funkcję kierownika grantu finansowanego przez Fundację GetResponse Cares pt. „Kombinacje





## UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

substancji biologicznie aktywnych pochodzenia roślinnego jako nowa strategia farmakoterapeutyczna w ostrych białaczkach limfoblastycznych u dzieci” (Nr 13-0028/03/506), w ramach którego współpracowała z naukowcami z Katedry i Zakładu Chemii Farmaceutycznej, Kliniki Pediatrii, Hematologii i Onkologii Oddziału Dziennego (GUMed) oraz z Zakładu Biologii Komórki i Immunologii Instytutu Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej (Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed). Kandydatka brała również udział w realizacji międzynarodowych projektów realizowanych w Polsce (GUMed) we współpracy z Koreą Południową, Węgrami, Czechami i Słowacją pt. „Narzędzia mikroelektroforetyczne w bioanalityce” (Nr DZP/V4-Korea-I/20/2018). Podczas stażu w Korei Południowej, w Katedrze Chemii na Uniwersytecie w Seoulu, pod kierownictwem prof. Doo Soo Chunga, Dr Miękus-Purwin realizowała projekt, którego głównym celem była analiza wybranych NLPZ z wykorzystaniem techniki mikroekstrakcji do jednej kropli (SDME), sprzężonej *on-line* z elektroforezą kapilarną. Technika ta jest obecnie wdrażana w laboratorium Katedry i Zakładu Chemii Farmaceutycznej GUMed, jako „zielona technika”. Od 2017r. Habilitantka również aktywnie uczestniczy w pracach analitycznych prowadzonych we współpracy z Uniwersytem w Rostoku (University Medical Center Rostock, Institute for Biomedical Engineering, Niemcy). Obejmują one działania zmierzające do opracowania metod oznaczania stopnia uwalniania substancji aktywnych z systemów innowacyjnych implantów oraz systemów do małoinwazyjnej aplikacji uwalniania leków stosowanych w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych, zaćmy, jaskry pierwotnej otwartego kąta, częściowej utraty słuchu i głuchoty. Habilitantka współpracuje także z Katedrą i Zakładem Chemii Farmaceutycznej GUMed, gdzie realizuje działania związane z optymalizacją metod oznaczania ważnych biologicznie cząsteczek tj. hormony, leki oraz ich zanieczyszczenia w matrycach biologicznych. Ścisłe współpracuje też z Zakładem Technologii Owoców i Warzyw Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie, a prowadzone tam badania obejmują analizę związków przeciwutleniających (karotenoidów) w żywności funkcjonalnej.

Realizując swoje cele badawcze Habilitantka ściśle współpracuje ze szpitalami, klinikami i jednostkami badawczymi tj. Szpitalem Miejskim w Redlowie (oddział rehabilitacji kardiologicznej), Szpitalem Miejskim im. Św. Wincentego a'Paulo w Gdyni (oddział kardiologiczny i neurologiczny), Zakładem Biologii Komórki i Immunologii Instytutu Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG-GUMed, zespołem Laboratoriów Specjalistycznych MWB UG i GUMed, Kliniką Pediatrii, Hematologii i Onkologii GUMed, Katedrą Fizjologii i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Gdańskiego oraz Katedrą Chemii UG.

Za osiągnięcia naukowe Pani Doktor została uhonorowana Nagrodą Dziekana Wydziału Biologii oraz Nagrodą Zespołową I stopnia dla pracowników GUMed za „Rozwój nowoczesnych metod w analizie biomedycznej i farmaceutycznej” (2017r.). W 2019r. otrzymała kolejną Nagrodę Dziekana Wydziału Biologii I stopnia oraz Nagrodę Rektora GuMed II stopnia za „Opracowanie metod zmierzających do analizy neurotransmiterów i substancji leczniczych za pomocą technik elektromigracyjnych”. Natomiast praca



## UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

opublikowana w Journal of Separation Science pt. „Application of solid phase microextraction in current biomedical research”, której Pani Doktor jest współautorką, znalazła się wśród 10% najczęściej cytowanych publikacji tego czasopisma w latach 2018-19.

Podsumowując całość dorobku naukowego Habilitantki z pełnym przekonaniem można stwierdzić, że został on znacznie powiększony po uzyskaniu stopnia doktora, nie tylko pod względem liczby prac, ale także ich wartości naukowej, a doświadczenie i umiejętności nabyte w pracy zarówno w krajowych jak i w międzynarodowych zespołach stanowią gwarancję dobrego przygotowania do dalszej, samodzielnej pracy naukowej.

### **Działalność dydaktyczna i organizacyjna**

Niezależnie od pracy naukowo-badawczej Habilitantka legitymuje się wieloletnim doświadczeniem jako ceniony dydaktyk, a przedstawiony zbiór dokumentów pozwala wysoko ocenić jej doświadczenie i osiągnięcia dydaktyczne. Dr Natalia Miękus-Purwin prowadzi zajęcia, w formie ćwiczeń i seminariów, z Chemii Leków dla II i III rok farmacji oraz fakultet „Wpływ substancji psychoaktywnych na funkcjonowanie organizmu ludzkiego”. Na Wydziale Biologii prowadziła wykłady z cyklu „Biologia systemów” dla V roku Biologii Medycznej, Wydziału Biologii UG oraz współprowadziła wykłady nt. „Najnowsze osiągnięcia neurobiologii”, „Podstawy neurofarmakologii” oraz seminaria w ramach Pracowni Projektowej w zakresie „Nauczanie zgodne z Problem Based Learning”.

Habilitantka aktywnie uczestniczy w wydarzeniach popularyzujących naukę na rzecz Wydziału i środowiska naukowego. W latach 2016-2019 prowadziła wykłady w szkołach podstawowych, gimnazjalnych i ponadgimnazjalnych w ramach organizowanej przez UG akcji „Zaproś naukowca do szkoły”. W latach 2017-2020 prowadziła na UG na Wydziale Biologii wykłady otwarte w ramach Dni Mózgu, gdzie omawiała zalety i wady nowoczesnych technik analitycznych w kontekście ich użyteczności klinicznej.

Od 2018r. Pani Doktor pełni funkcję opiekuna dwóch grup studentów kierunku farmacja Wydziału Farmaceutycznego GUMed w ramach koła naukowego działającego przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej.

Była promotorem 1 pracy magisterskiej i 6 prac licencjackich na kierunkach Biologia i Biologia Medyczna Wydziału Biologii UG. Bierze także udział w realizacji prac magisterskich w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed. Była członkiem komitetu organizacyjnego międzynarodowej konferencji naukowej, 16th International Interdisciplinary Meeting on Bioanalysis (CECE 2019), która odbyła się w 2019r. w Gdańsku.

Wyrazem uznania dla bogatego doświadczenia i wypracowanego warsztatu naukowego dr Natalii Miękus-Purwin jest obecność w szeregu Recenzentów czasopism naukowych. Habilitantka była recenzentem licznych manuskryptów (19) nadesłanych do renomowanych anglojęzycznych czasopism (12), a od 2020r. jestem członkiem komisji opiniodawczej w Clinical Case Reports Journal (ISSN: 2165-7920) oraz w Polymers (ISSN: 2073-4360).

Habilitantka już w trakcie studiów była członkiem Studenckiego Koła Naukowego przy zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego





**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM MEDICUM**

oraz Studenckiego Koła Naukowego „Farmacja Przemysłowa”, działającego przy Katedrze i Zakładzie Farmacji Stosowanej GUM, a od 2009r. ISPE – Engineering Pharmaceutical Innovation. Od 2015r. jest członkiem Gdańskiej Okręgowej Izby Aptekarskiej, od 2017r. Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego i Cancer Epigenetics Society. W latach 2015-2019 pełniła funkcję członka, a od 2020r. przewodniczącej Gdańskiej Okręgowej Komisji Rewizyjnej.

**Wniosek końcowy**

Całokształt aktywności dr Natalii Miękus-Purwin udokumentowany znaczącym dorobkiem publikacyjnym wraz z innymi osiągnięciami, tj. umiejętność samodzielnego formułowania koncepcji badań, racjonalnego ich planowania i realizowania poprzez kompetentne rozwiązywanie ważnych i aktualnych problemów naukowych oraz zdolność do współpracy i pozyskiwania środków na badania, wskazuje na przygotowanie do pełnienia roli samodzielnego pracownika naukowego. Posiada również znaczące osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne.

W mojej opinii dotychczasowa aktywność naukowa dr Natalii Miękus-Purwin, zwłaszcza po uzyskaniu stopnia doktora oraz przedstawione osiągnięcie, spełniają wszystkie wymogi formalne określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1668 późn. zm.). Biorąc pod uwagę przedłożone osiągnięcie naukowe, a także całokształt działalności Habilitantki przedstawiam pozytywną opinię wniosku Pani dr Natalii Miękus-Purwin o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Dr hab. n. farm. Monika Dąbrowska

Katedra Chemii Nieorganicznej  
i Farmaceutycznej  
*Monika Dąbrowska*  
dr hab. Monika Dąbrowska  
adiunkt