

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych

***Identyfikacja niedeklarowanych substancji aktywnych
farmakologicznie w produktach nielegalnych i sfałszowanych
metodą wysokorozdzielczej tandemowej spektrometrii mas***

dr n. farm. Agata Błażewicz



**Zakład Leków Sfałszowanych i Używek
Narodowego Instytutu Leków w Warszawie**

Warszawa 2019

Spis treści

I. Informacje o kandydacie	2
1. Imię i nazwisko	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe oraz tytuł rozprawy doktorskiej	2
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	2
II. Przebieg kariery naukowej	3
1. Praca naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych	3
2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora.....	5
III. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):.....	9
1. Tytuł osiągnięcia naukowego:.....	9
2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe	9
3. Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.	11
3.1. Wprowadzenie i cele pracy.....	11
3.2. Metodyka badań.....	24
3.3. Omówienie wyników	27
3.4. Podsumowanie i wykorzystanie wyników badań.	42
IV. Plany badawcze	44
V. Wykaz innych (nie wchodzących w skład osiągnięcia wymienionego w pkt III) opublikowanych prac naukowych.....	47
1. Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC)	47
2. Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JRC):	49
3. Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach .	50
4. Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną	51
5. Wygłoszenie referatów i komunikatów oraz przedstawienie plakatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych	52
VI. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta	58
1. Uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych...	58
2. Aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych	58
3. Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych	59
4. Udział w konsorcjach i sieciach badawczych	59
5. Kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych oraz we współpracy z przedsiębiorcami, innymi niż wymienione w pkt V 3.....	59
6. Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism	59
7. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych	59
8. Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki	60
9. Opieka naukowa nad studentami	64
10. Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego.....	65
11. Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich	65
12. Wykonane ekspertyzy lub inne opracowania na zamówienie.....	66
13. Udział w zespołach eksperckich i konkursowych.....	67
14. Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych.....	67
15. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych	67
16. Inne osiągnięcia	67
VII. Podsumowanie osiągnięć naukowo-badawczych	69

I. Informacje o kandydacie

1. Imię i nazwisko

Agata Błażewicz (z d. Piwońska)

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe oraz tytuł rozprawy doktorskiej

Dyplom i tytuł magistra - uzyskany **21 czerwca 2000 r.** na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Warszawie w zakresie analityki farmaceutycznej; praca magisterska pt.: *Badanie kwasu tiosalicylowego i ditiodibenzoowego metodą woltamperometrii cyklicznej i mikrowagi kwarcowej* (promotor prof. dr hab. Z. Fijałek) obroniona z wynikiem bardzo dobrym;

Stopień doktora nauk farmaceutycznych - nadany **13 maja 2009 r.** uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Tytuł rozprawy doktorskiej: *Oznaczanie leków znieczulających miejscowo i zwiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń metodą HPLC z zastosowaniem detekcji amperometrycznej, kulometrycznej i wyładowań koronowych* (promotor prof. dr hab. Z. Fijałek, recenzenci: prof. dr hab. W. Kołodziejski oraz prof. dr hab. J. Łukasiak). Praca uzyskała najwyższe wyróżnienie **summa cum laude**; została zrealizowana w ramach grantu promotorskiego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Miejsce zatrudnienia: Narodowy Instytut Leków (NIL) (wcześniejsze nazwy: Instytut Leków, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego), ul. Chełmska 30/34, 00-725 Warszawa

01.07.2000 – 30.04.2004	stanowisko inżynierjno-techniczne w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej NIL;
01.05.2004 – 30.09.2005	stanowisko specjalisty ds. analityki w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej NIL;
01.10.2005 – 14.10.2009	asystent w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej NIL;
15.10.2009 – 30.06.2011	adiunkt, kierownik pracowni Metod Elektrochemicznych w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej NIL;
01.07.2011 – 29.02.2016	adiunkt, kierownik pracowni Metod Elektrochemicznych w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, zastępca kierownika Zakładu Chemii Farmaceutycznej NIL;
01.03.2016 – 15.05.2016	adiunkt, kierownik pracowni Metod Elektrochemicznych w Samodzielnej Pracowni NMR NIL (w związku z reorganizacją NIL);
16.05.2016 – 31.12.2017	adiunkt, kierownik pracowni Spektrometrii Mas (LC-MS) w Zakładzie Leków Sfałszowanych i Używek NIL;
01.01.2018 – nadal	adiunkt, kierownik Laboratorium XRPD-MS-NMR w Zakładzie Leków Sfałszowanych i Używek NIL , zastępca kierownika Zakładu Leków Sfałszowanych i Używek NIL.

II. Przebieg kariery naukowej

1. Praca naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Mój dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora (wraz z pracami związanymi z pracą doktorską) obejmuje: **9** publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania Impact Factor = **23,418** i punktacji MNiSW = **196** pkt.

Byłam współautorem **15** doniesień konferencyjnych prezentowanych na krajowych oraz zagranicznych konferencjach, z czego **2** prezentowałam w formie ustnych wystąpień.

Opis dotychczasowego przebiegu pracy naukowej

Pierwsze badania naukowe rozpoczęłam w 1998 roku podczas pracy magisterskiej, którą wykonywałam w Instytucie Leków pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa E. Fijałka. Badałam związki pochodne kwasu salicylowego: kwas tiosalicylowy (z ugrupowaniem sulfhydrylowym) i kwas ditiodibenzoowy (z ugrupowaniem disiarczowym) metodą woltamperometrii cyklicznej oraz jedną z najnowocześniejszych wówczas metod elektrochemicznych – metodą elektrochemicznej mikrowagi kwarcowej. Celem pracy było poznanie elektroaktywności tych związków oraz opracowanie powtarzalnej i dokładnej metody ich oznaczania. Wyniki tej pracy zostały opublikowane w artykule naukowym (**A1**).

W 1999 roku wyjechałam na ośmiomiesięczne stypendium naukowe w ramach Programu Socrates-Erasmus do Instytutu Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Bonn (Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität). Pracowałam tam w zespole prof. dr E. Leistnera - brałam udział w realizacji projektu badawczego dotyczącego badania wpływu 4'-O-metylopirydoksyny, tzw. ginkgotoksyny pochodzącej z *Ginkgo biloba*, na dwa izoenzymy dekarboksylazy glutaminianowej, znajdującej się w ludzkim mózgu. Celem tej pracy było wyjaśnienie przyczyny epileptycznych konwulsji, utraty przytomności, a nawet śmierci po spożyciu nasion *Ginkgo biloba*. Wyniki tej pracy zostały opublikowane w artykule naukowym (**A2**). Pobyt w zagranicznym ośrodku naukowym umożliwił mi zdobycie cennego doświadczenia, tak potrzebnego w dalszej pracy badawczej.

W czerwcu 2000 roku brałam udział w międzynarodowej konferencji elektrochemicznej, na której w formie plakatu prezentowane były wyniki z mojej pracy magisterskiej (**K1**), którą obroniłam 21 czerwca 2000 r. z wynikiem bardzo dobrym.

1 lipca 2000 roku rozpoczęłam pracę w Instytucie Leków w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej w Pracowni Metod Elektrochemicznych. W pracy naukowo-badawczej zajęłam się badaniem związków znieczulających miejscowo. Pod kierunkiem prof. dr hab. Z. Fijałka opracowałam metodę HPLC z detekcją amperometryczną oznaczania leków do znieczulenia miejscowego (lidokainy, bupiwakainy, mepiwakainy, prylokainy, ropiwakainy) oraz ich zanieczyszczeń (2,6-dimetyloaniliny oraz o-toluidyny). Metoda ta umożliwia oznaczanie powyższych substancji oraz bardzo niskich stężeń ich zanieczyszczeń

w różnych postaciach farmaceutycznych (granica wykrywalności $0,8 \text{ ng ml}^{-1}$, a granica oznaczalności $1,5 \text{ ng ml}^{-1}$). Wyniki tych badań opublikowano w dwóch czasopismach naukowych (**A3, B1**) i były prezentowane na dwóch zjazdach (**K2, K4**).

Miałam również możliwość pracy naukowej z zastosowaniem metod spektroskopowych: metody płomieniowej i bezpłomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA) oraz spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie wzbudzoną (ICP-MS). Tematem badań było oznaczanie lantanowców w roślinach leczniczych metodą ICP-MS, a wyniki zostały zaprezentowane w formie plakatu (**K3**).

W dniu 19 października 2005 r. na Wydziale Farmaceutycznym WUM, został otwarty mój przewód doktorski i dalsze badania do pracy doktorskiej kontynuowałam w ramach realizacji grantu promotorskiego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Decyzja MNiSW Nr 2875/P01/2006/31 z dnia 11.08.2006) pt: *Oznaczanie leków zmiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych metodami elektroanalitycznymi*. Przedmiotem moich badań były leki zmiotczające mięśnie, pochodne izochinoliny: atrakurium, miwakurium, cisatrakurium, a także pochodne steroidowe: pankuronium, wekuronium, pipekuronium, rokuronium oraz ich zanieczyszczenia. W pierwszym etapie zajęłam się badaniem elektroaktywności wybranych związków zmiotczających mięśnie metodą woltamperometrii cyklicznej i pulsowej różnicowej. W kolejnym etapie wykonałam badania tych związków z zastosowaniem nowoczesnej techniki analitycznej - metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją elektrochemiczną: amperometryczną (PAD) i kulometryczną (CEAD) oraz detekcją wyładowań koronowych (CAD). Celem tej pracy było opracowanie czułych, specyficznych i dokładnych metod, umożliwiających jednoznaczną ocenę substancji czynnych oraz ich zanieczyszczeń w różnych preparatach farmaceutycznych zmiotczających mięśnie oraz walidacja tych metod. W dostępnej literaturze nie znaleziono wówczas doniesień dotyczących oznaczania związków zmiotczających mięśnie metodą HPLC z detekcją amperometryczną, a Farmakopea Europejska zalecała mało dokładną metodę chromatografii cienkowarstwowej do oznaczania ich zanieczyszczeń.

Uzyskane przeze mnie wyniki były przedstawiane w formie ustnych komunikatów (**R1, R2**) i plakatów na konferencjach międzynarodowych i krajowych (**K2, K4, K5-K12**) oraz zostały opublikowane w artykułach naukowych (**A3-A8, B1**), które tworzyły zamknięty cykl tematyczny siedmiu publikacji w rozprawie doktorskiej zatytułowanej: *Oznaczanie leków znieczulających miejscowo i zmiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń metodą HPLC z zastosowaniem detekcji amperometrycznej, kulometrycznej i wyładowań koronowych*. Pracę doktorską obroniłam w dniu 13 maja 2009 r. i uzyskała ona najwyższe wyróżnienie **summa cum laude**.

Za cykl publikacji stanowiących podstawę mojej pracy doktorskiej otrzymałam **Nagrodę naukową zespołową I stopnia** Rektora WUM Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, a praca doktorska zajęła **I miejsce** w VI edycji konkursu **na najlepsze prace doktorskie** wśród

prac naukowych dotyczących nowych odkryć i innowacji, mogących znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, Fundacji Hasco-Lek.

W trakcie badań do pracy doktorskiej w 2007 r. odbyłam miesięczny staż naukowy w Centrum Badań Naukowych w Jülich w Niemczech (Research Centre, Department of Safety and Radiation Protection).

2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Mój dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora (wraz z pracami związanymi z cyklem habilitacyjnym) obejmuje: **21** publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania Impact Factor = **35,213** i punktacji MNiSW = **332** pkt.

Byłam współautorem **54** doniesień konferencyjnych prezentowanych na krajowych (39) oraz zagranicznych (15) konferencjach, z czego **13** prezentowałam w formie ustnych wystąpień.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych w 2009 r. zostałam zatrudniona na stanowisku adiunkta oraz zaczęłam pełnić funkcję kierownika pracowni w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej NIL. Powierzono mi wdrożenie do badań rutynowych i naukowych nowej techniki - spektrometrii mas z analizatorem czasu przelotu w połączeniu z HPLC (LC-ESI-QTOF-MS/MS), po wcześniej efektywnie wdrożonych technikach HPLC z detekcją kulometryczną (CEAD) i wyładowań koronowych (CAD). Jako kierownik techniczny w dziedzinie spektrometrii mas w NIL byłam odpowiedzialna za przygotowanie do akredytacji metody badania składu jakościowego (identyfikacja i potwierdzenie tożsamości) związków w zakresie mas 90-1100 m/z techniką LC-MS/MS przez Polskie Centrum Akredytacji (certyfikat akredytacji nr AB 774) oraz atestacji przez Europejski Dyrektoriat ds. Jakości Leków i Ochrony Zdrowia EDQM (certyfikat atestacji MJA-126).

Prace naukowo-badawcze realizowane w ramach działalności statutowej Instytutu Leków prowadziłam równolegle w dwóch obszarach tematycznych:

- I. zastosowanie technik instrumentalnych w ocenie jakości produktów leczniczych i w analizie produktów substandardowych;
- II. zastosowanie technik instrumentalnych w analizie nielegalnych i sfałszowanych produktów leczniczych, suplementów diety oraz nowych narkotyków syntetycznych tzw. „dopalaczy”.

Obszar I

Prace wchodzące w skład cyklu w pracy doktorskiej (**A7** i **A8**) zostały dostrzeżone przez środowisko naukowe i zostałam zaproszona do napisania monografii w książce poświęconej technice LC-CAD¹, którą stosowałam w swoich badaniach. W związku z tym kontynuowałam prace badawcze dotyczące oceny jakości produktów leczniczych zwiotczających mięśnie szkieletowe metodą LC-CAD, co zostało opisane w rozdziale monografii (**B8**).

¹ Charged Aerosol Detection for Liquid Chromatography and Related Separation Techniques, ed. Paul H. Gamache, John Wiley & Sons, Inc. (2017).

Kolejne prace naukowo-badawcze również związane były z oceną jakości produktów leczniczych i analizą leków substandardowych, czyli wytworzonych legalnie przez producenta, ale posiadających niezamierzone przez niego wady jakościowe. Tematyka i zakres prac badawczych były związane z badaniami prowadzonymi w NIL w ramach kontroli jakości produktów leczniczych. Były one próbą rozwiązania problemów analitycznych, które wystąpiły w trakcie rutynowych badań leków, na przykład w trakcie badań kontrolnych produktów zawierających antybiotyki aminoglikozydowe, ze względu na brak ugrupowań chromoforowych i aktywnych elektrochemicznie w budowie tych związków. Problem potęgował trudny rozdział chromatograficzny, który był spowodowany zbliżoną strukturą chemiczną ich związków pokrewnych. Proponowane przez Farmakopeę Europejską metody HPLC z pulsową detekcją amperometryczną wymagają zastosowania procesu derywatyzacji i są nieodtwarzalne, co było raportowane przez wiele ośrodków badawczych^{2,3}. Opracowania nowych alternatywnych metod podjęła się doktorantka mgr farm. (obecnie dr n. farm.) Karolina Stypułkowska, której byłam promotorem pomocniczym, w pracy doktorskiej pt: *Oznaczanie wybranych antybiotyków aminoglikozydowych oraz ich zanieczyszczeń metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detekcją wyładowań koronowych i spektrometrii mas*. Podstawą metodyki badawczej było zastosowanie nowoczesnych technik łączonych: HPLC w połączeniu z tandemową spektrometrią mas z analizatorem czasu przelotu i jonizacją typu elektrorozpylanie (LC-ESI-QTOF-MS/MS) oraz w połączeniu z detektorem wyładowań koronowych *Corona ultra RSTM Charged Aerosol Detector* (LC-CAD). Komplementarność technik umożliwiła jednoczesną analizę jakościową oraz ilościową badanych związków. Przeanalizowano również ścieżki fragmentacji aminoglikozydów. W badaniach ilościowych zastosowano detektor wyładowań koronowych, który pozwala na oznaczanie praktycznie każdego nielotnego lub średnio lotnego związku, niezależnie od jego struktury chemicznej i właściwości. Wykorzystanie detektora CAD umożliwiło bezpośrednie oznaczanie aminoglikozydów, bez potrzeby stosowania procesu derywatyzacji. Ponadto uniwersalność odpowiedzi CAD (zbliżona intensywność sygnału dla zbliżonych stężeń różnych związków) pozwoliła na oznaczanie zanieczyszczeń względem materiału odniesienia aktywnej substancji farmaceutycznej (API) z bardzo dobrą dokładnością, z pominięciem aspektu współczynników odpowiedzi. W przypadku antybiotyków aminoglikozydowych oznaczanie poziomu zanieczyszczeń jest bardzo istotne, ponieważ ich substancje pokrewne zwykle wykazują aktywność biologiczną. Jakość chemiczno-farmaceutyczna tych produktów jest szczególnie ważna, ponieważ większość z nich podawana jest w postaci iniekcji. Przy podaniu dożylnym bądź domięśniowym zawartość zanieczyszczeń, w ilości przekraczającej dopuszczalne normy może stanowić bezpośrednie zagrożenie dla pacjenta. Opracowano warunki rozdziału i oznaczania substancji czynnych: gentamicyny w postaci pięciu komponentów (C1, C1a, C2,

² E. Adams, J. Hoogmartnes, The application of pulsed electrochemistry to the detection of aminoglycoside antibiotics in liquid chromatography, *Pharmeuropa* 16 (2004) 222-227

³ V. Manyanga, K. Kret, B. Divjak, J. Hoogmartens, E. Adams, Improved liquid chromatographic method with pulsed electrochemical detection for the analysis of gentamicin, *J. Chrom. A* 1189 (2008) 347-354

C2a, C2b) oraz 10 jej zanieczyszczeń (**A9**), neomycyny oraz 7 jej zanieczyszczeń w produktach leczniczych prostych i złożonych (**A11**), spektynomycyny i 10 jej zanieczyszczeń oraz linkomycyny i linkomycyny B (**A14**). Opracowane metody zostały zwalidowane w oparciu o wytyczną ICH 381/95 *Validation of Analytical Procedures*, tak aby mogły stanowić alternatywę dla skomplikowanych metod farmakopealnych, a nowe kierunki i wyzwania dotyczące badania aminoglikozydów opisane zostały w publikacji przeglądowej (**B6**).

Obszar II

Kierunek prac w tym obszarze został niejako narzucony przez sytuację na legalnym i nielegalnym rynku leków w Polsce oraz na świecie, i dotyczy poważnego problemu leków sfałszowanych oraz nielegalnego handlu lekami, wyrobami medycznymi, suplementami diety i nowymi narkotykami syntetycznymi, tzw. „dopalaczami”. Do Narodowego Instytutu Leków w celu zbadania składu jakościowego i/lub ilościowego zaczęły lawinowo wpływać produkty podejrzewane o sfałszowanie, pochodzące głównie z nielegalnego łańcucha dystrybucji. Postanowienia organów ścigania i wymiaru sprawiedliwości (policja, straż graniczna, służba celna, prokuratura, sądy) powoływały NIL jako biegłego instytucjonalnego w myśl art. 193 § 2 KPK do wydania opinii.

Wśród produktów kierowanych do pracowni, którą kierowałam od 2009 roku, w celu identyfikacji metodą LC-ESI-QTOF-MS/MS czy oznaczenia zawartości metodą LC-CAD przeważały grupy produktów opisane poniżej, będące materiałem do przeprowadzenia pogłębionych badań, których interesujące wyniki opisano w publikacjach i licznych doniesieniach zjazdowych:

- produkty odchudzające, w tym ziołowe suplementy diety – zawierające niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie m.in. sybutraminę lub jej analogi strukturalne (**B3, H1**);
- produkty lecznicze i suplementy diety zalecane na dysfunkcję erekcji (inhibitory fosfodiesterazy typu 5) – zawierające niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie m.in. syldenafil, tadalafil, wardenafil lub ich analogi strukturalne (**B2, A13, H3**);
- hormony steroidowe anaboliczno-androgenne, zawierające m. in. estry testosteronu, nandrolonu, trenbolonu i inne stosowane w dopingu, a wymienione w Liście Metod i Substancji Zabronionych do stosowania w sporcie (**B3**);
- leki stosowane niezgodnie z przeznaczeniem w celu przerwania ciąży i wywołania aborcji farmakologicznej, zawierające m.in. syntetyczne prostaglandyny (mizoprostol) i mifepriston (**B4**);
- leki stosowane niezgodnie z przeznaczeniem w celu odurzania się (np. pseudoefedryna, dekstrometorfan, kodeina, benzydamina, difenhydramina, ketamina, opioidy) (**B5**);
- produkty oferowane w sklepach z artykułami erotycznymi – zawierające kantarydynę, johimbinę, benzokainę lub lidokainę (**A10**);

- nowe narkotyki syntetyczne – tzw. „dopalacze” – najbardziej liczna grupa produktów zawierających substancje psychoaktywne (**B5, H2, H4, H5, H7**);
- produkty zawierające niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie m.in.: peptydy, białka, hormony wzrostu (**H6**);
- suplementy diety i kosmetyki, zawierające niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie;
- oraz różnego rodzaju substancje lub materiały dowodowe o nieznanym składzie chemicznym.

Niejednokrotnie prowadziłam badania substancji, których inne laboratoria analityczne nie były w stanie zidentyfikować lub ich identyfikacja była błędna, co powodowało nieuzasadnione sankcje karne lub ich brak.

Tematyki badania produktów nielegalnych i sfałszowanych podjęła się w pewnym zakresie doktorantka - mgr farm. (obecnie dr n. farm.) Magdalena Popławska, której byłam opiekunem bezpośrednim przy realizacji pracy pt: *Opracowanie komplementarnych metody identyfikacji i oznaczania substancji aktywnych farmakologicznie w produktach nielegalnych i sfałszowanych*. Zastosowanie technik łączonych LC-QTOF-MS/MS dostarcza wielu danych ułatwiających jednoznaczną identyfikację wykrytych substancji. W zagadnieniach dotyczących oznaczania zawartości analogów substancji aktywnych farmakologicznie wykazano, jak nieodzowne staje się stosowanie detektora wyładowań koronowych w laboratoriach zajmujących się analizą farmaceutyczną oraz kryminalistyczną. Ponieważ nieustannie identyfikuje się kolejne nowe pochodne związków aktywnych farmakologicznie, nie jest możliwe, aby laboratorium dysponowało materiałami odniesienia dla wszystkich wykrytych analogów. W rozwiązaniu tego problemu pomocny okazał się uniwersalny detektor wyładowań koronowych CAD, który umożliwia dokładne i precyzyjne oznaczanie zawartości praktycznie każdego związku nielotnego lub średnio lotnego w próbce, niezależnie od jego struktury chemicznej i właściwości. Ponieważ wielkość odpowiedzi detektora powinna być podobna dla każdego związku o takim samym stężeniu, opracowano i zwalidowano metodę oznaczenia zawartości wykrytych analogów inhibitorów fosfodiesterazy 5, względem materiałów odniesienia: sylденаfilem oraz tadalafilu (**A13**). Przebadano wiele próbek suplementów diety pochodzących zarówno z aptek, jak i od producentów. W większości z nich stwierdzono obecność nie tylko substancji leczniczych z grupy inhibitorów fosfodiesterazy 5, które są wydawane w aptece jedynie z przepisu lekarza, ale również ich analogów strukturalnych aktywnych farmakologicznie, o nieokreślonej toksyczności i bezpieczeństwie stosowania. Opracowano odpowiednie warunki rozdzielania chromatograficznego poszczególnych substancji oraz zoptymalizowano proces przygotowania próbek, które zawierają skomplikowaną matrycę ziołową. Przeprowadzono walidację opracowanej metody, a następnie zastosowano ją do oznaczenia zawartości zidentyfikowanych substancji aktywnych w wybranych suplementach diety. Uzyskane wyniki wykazały, że preparaty zawierały dodatek substancji chemicznych w dawkach wywierających działanie farmakologiczne. Metodę LC-CAD zastosowano również w badaniu zawartości

wielu różnych syntetycznych kannabinoidów w próbkach „dopalaczy” względem dwóch materiałów odniesienia JWH-018 i JWH-250 (H5).

Wykazano również przydatność detekcji amperometrycznej w połączeniu z metodami chromatograficznego rozdzielania do oznaczenia ilościowego substancji aktywnych elektrochemicznie. Zwalidowano metody oznaczania zawartości substancji znieczulających miejscowo: lidokainy i benzokainy, co umożliwiło oznaczenie wykrytych substancji farmaceutycznych, stosowanych niezgodnie z przeznaczeniem w celu: opóźnienia ejakulacji w produktach dostępnych w ofercie sklepów z artykułami erotycznymi lub imitowania działania miejscowo znieczulającego kokainy w produktach typu „dopalacze” (A10).

Pozostałe interesujące prace w tym obszarze, w którym się specjalizuję, dotyczące identyfikacji niedeklarowanych substancji przy zastosowaniu wysokorozdzielczego hybrydowego spektrometru mas z analizatorem czasu przelotu, stanowią cykl publikacji H1 - H7, będący osiągnięciem naukowym opisanym szczegółowo w rozdziale III niniejszego autoreferatu.

III. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Identyfikacja niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie w produktach nielegalnych i sfałszowanych metodą wysokorozdzielczej tandemowej spektrometrii mas.

2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

Osiągnięciem przedstawionym do oceny jest cykl publikacji składający się z siedmiu prac opublikowanych w latach 2011-2019, w tym sześć w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz jednego rozdziału w monografii o zasięgu krajowym, o sumarycznych wskaźnikach oddziaływania: IF = 20,711, Pkt. MNiSW = 90.

H1. K. Stypułkowska, A. Błażewicz*, J. Maurin, K. Sarna, Z. Fijałek

X-ray powder diffractometry and liquid chromatography studies of sibutramine and its analogues content in herbal dietary supplements

J. Pharm. Biomed. Anal. 56 (2011) 969–975

Impact Factor = 2,967 Pkt. MNiSW = 30

H2. A. Błażewicz*, A. Mazurek, M. Popławska, P. Baran, J. Sitkowski, E. Bednarek, L. Kozerski, Z. Fijałek

Komplementarne techniki badania nowych narkotyków syntetycznych

Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych, pod red. R. Bachlińskiego i A. Polichy, Wyd. CLKP Warszawa (2013) 29–53

Impact Factor = 0 Pkt. MNiSW = 0

- H3.** M. Popławska, **A. Błażewicz**, P. Żołek, Z. Fijałek
Determination of flibanserin and tadalafil in supplements for women sexual desire enhancement using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometer, diode array detector and charged aerosol detector
J. Pharm. Biomed. Anal. 94 (2014) 45–53
Impact Factor = 2,979 Pkt. MNiSW = 35
- H4.** **A. Błażewicz***, E. Bednarek, J. Sitkowski, M. Popławska, K. Stypułkowska, W. Bocian, L. Kozerski
Identification and structural characterization of four novel synthetic cathinones: α -methylaminohexanophenone (hexedrone, HEX), 4-bromoethcathinone (4-BEC), 4-chloro- α -pyrrolidinopropiophenone (4-Cl-PPP), and 4-bromo- α -pyrrolidinopentiophenone (4-Br-PVP) after their seizures
Forensic Toxicology 35 (2017) 317–332
Impact Factor = 3,924 Pkt. MNiSW = 0
- H5.** M. Popławska, **A. Błażewicz***, K. Kamiński, E. Bednarek, Z. Fijałek, L. Kozerski
The development of high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection method for universal quantitation of synthetic cannabinoids in herbal blends
Forensic Toxicology 36 (2018) 122–140
Impact Factor = 3,924 Pkt. MNiSW = 0
- H6.** M. Popławska, **A. Błażewicz***
Identification of a novel growth hormone releasing peptide (a glycine analogue of GHRP-2) in a seized injection vial
Drug Testing Analysis 11 (2019) 162-167, DOI: 10.1002/dta.2467
Impact Factor = 2,993 Pkt. MNiSW = 25
- H7.** **A. Błażewicz***, E. Bednarek, M. Popławska, N. Olech, J. Sitkowski, L. Kozerski
Identification and structural characterization of synthetic cathinones: N-propylcathinone, 2,4-dimethylmethcathinone, 2,4-dimethylethcathinone, 2,4-dimethyl- α -pyrrolidinopropiophenone, 4-bromo- α -pyrrolidinopropiophenone, 1-(2,3-dihydro-1H-inden-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one and 2,4-dimethylisocathinone
Forensic Toxicology 2019, DOI:10.1007/s11419-018-00463-w
Impact Factor = 3,924 Pkt. MNiSW = 0

*Autor korespondencyjny

Opis indywidualnego wkładu habilitanta oraz oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac i udział procentowy znajdują się w **Załączniku nr 5**.

Analiza bibliometryczna potwierdzająca punktację Impact Factor oraz MNiSW, sporządzona przez Bibliotekę Główną Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, znajduje się w **Załączniku nr 6**.

3. Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

3.1. Wprowadzenie i cele pracy

Obecność niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie w produktach nielegalnych i sfalszowanych powoduje wyjątkową szkodliwość dla zdrowia publicznego i jest poważnym zagrożeniem dla zdrowia i życia ludzi. Z jednej strony zwiększa się nielegalna produkcja i nielegalna podaż sfalszowanych produktów leczniczych i suplementów diety, szczególnie w obrocie pozaaptecznym oraz nowych syntetycznych narkotyków w ofertach sklepów internetowych, z drugiej zaś przybywa udokumentowanych informacji o hospitalizacjach i zgonach osób, które stosowały preparaty niewiadomego pochodzenia. Dane na opakowaniach tych produktów często zawierają nieprawdziwe informacje o składzie, pochodzeniu, działaniu oraz zastosowaniu, czym wprowadzają w błąd pacjentów (w przypadku leków) i konsumentów (w przypadku suplementów diety i innych produktów nielegalnych) lub nie zawierają tych informacji wcale.

Skala zjawiska procederu fałszowania produktów medycznych jak i rozpowszechnienia nielegalnych produktów wymaga, oprócz rozwijania efektywnych metod przeciwdziałania i ścigania, także opracowania i wdrożenia metod analitycznych, umożliwiających jednoznaczną identyfikację niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie.

Sfalszowane i nielegalne produkty lecznicze

Od wielu lat na całym świecie ma miejsce obrót lekami nielegalnymi i sfalszowanymi, ale w ostatnim czasie jest on coraz łatwiejszy, z uwagi na zwiększoną dostępność leków oraz otwarte drogi handlu, w tym sprzedaż internetową. Przestępczość farmaceutyczna, obok handlu narkotykami, jest w sferze zainteresowań zorganizowanych grup przestępczych, a fałszowaniu leków sprzyja wiele czynników, przede wszystkim:

- a) wysoki koszt leków oryginalnych (w ostatnim czasie przede wszystkim biologicznych);
- b) niskie koszty nielegalnej produkcji (osiągane poprzez stosowanie gorszej jakości zamienników aktywnych substancji farmaceutycznych (*Active Pharmaceutical Ingredient* - API) lub pomocniczych, stosowanie API w mniejszych ilościach lub zupełny ich brak, niskie standardy wytwarzania – brak Dobrych Praktyk Wytwarzania (*Good Manufacturing Practice*, GMP) i kontroli jakości);
- c) nieadekwatne do potencjalnego zysku sankcje karne;
- d) łatwy zakup leków przez internet przy braku wiedzy o szkodliwym wpływie produktów złej jakości na zdrowie i życie;
- e) obrót lekami z użyciem wielu pośredników;
- f) trudności w wykrywaniu niedeklarowanych składników przez laboratoria kontrolne przy zastosowaniu rutynowych metod analitycznych.

Istnieje szereg definicji leków sfalszowanych, jednakże w rozumieniu znowelizowanej ustawy Prawo farmaceutyczne art 2. 38a ⁴:

sfalszowanym produktem leczniczym - jest produkt leczniczy, z wyłączeniem produktu leczniczego z niezamierzoną wadą jakościową, który został fałszywie przedstawiony w zakresie:

- a) tożsamości produktu, w tym jego opakowania, etykiety, nazwy lub składu w odniesieniu do jakichkolwiek składników, w tym substancji pomocniczych, oraz mocy tych składników,
- b) jego pochodzenia, w tym jego wytwórcy, kraju wytworzenia, kraju pochodzenia lub podmiotu odpowiedzialnego, lub
- c) jego historii, w tym danych i dokumentów dotyczących wykorzystanych kanałów dystrybucji.

Natomiast **lek nielegalny** to lek, który nie został dopuszczony do obrotu na terenie danego kraju lub taki, który został dopuszczony do obrotu, ale jest sprzedawany w miejscach do tego nieuprawnionych. Coraz częściej też kradzione są całe kontenery legalnych leków w trakcie transportu, które następnie trafiają do nieoficjalnego łańcucha dystrybucji. Niestety przechowywane w niekontrolowanych warunkach mogą stanowić zagrożenie dla pacjentów.

Leków sfalszowanych i nielegalnych nie należy mylić z **lekami substandardowymi**, czyli wytworzonymi legalnie przez producenta, ale posiadającymi niezamierzone przez niego wady jakościowe, które mogą być spowodowane brakiem odpowiednich systemów zapewnienia jakości czy stosowania GMP. Przykładem takich substandardowych produktów są wstrzymane lub wycofane ostatnio z obrotu produkty lecznicze zawierające walsartan ⁵.

Niestety sfalszowane produkty lecznicze (stwarzając zagrożenie dla zdrowia i życia) niosą za sobą nieporównywalnie większe szkody niż podrobione produkty innego rodzaju dostępne na rynku, takie jak odzież, kosmetyki czy elektronika, gdzie głównie mamy do czynienia z naruszaniem praw własności intelektualnej i nieodpowiednią jakością tych produktów.

Dane dotyczące rzeczywistego rynku leków sfalszowanych oraz zagrożeń zdrowotnych, jakie one wywołują są w dużym stopniu niedoszacowane. Niemniej jednak wszystko wskazuje na to, iż **wskutek globalizacji obrót towarami sfalszowanymi i nielegalnymi będzie się w kolejnych latach nasilał**.

Według danych WHO w okresie 2013 - 2017 głównymi kategoriami leków sfalszowanych i substandardowych były: leki przeciwmalaryczne (19,6 %), antybiotyki (16,9 %), leki znieczulające i przeciwbólowe (8,5 %), poprawiające jakość życia (8,5 %), leki przeciwnowotworowe (6,8 %) i inne (39,7 %) ⁶. Jeśli chodzi o specyfikę rozmieszczenia geograficznego fałszerstw leków, to w krajach rozwijających się najczęściej fałszowane są

⁴ Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (Dz.U. 2001 Nr 126 poz. 1381 ze zm.)

⁵ <https://www.gif.gov.pl/pl/aktualnosci/1340,Decyzje-dotyczace-niektorych-produktow-leczniczych-zawierajacych-walsartan.html> [dostęp 10.01.2019]

⁶ WHO Global Surveillance and Monitoring System for substandard and falsified medical products ISBN 978-92-4-151342-5; Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IG

produkty podstawowe, ratujące życie, takie jak antybiotyki, leki przeciwmalaryczne, przeciwgruźlicze, antyretrowirusowe (anty-HIV), przeciwbólowe, przeciwhistaminowe. Natomiast w krajach wysokorozwiniętych są to głównie produkty wpływające na poprawę jakości życia i zwiększanie możliwości swojego organizmu, przede wszystkim produkty na dysfunkcje erekcji, środki wspomagające odchudzanie, hormony, steroidy anaboliczno-androgenne oraz leki zawierające substancje psychotropowe i środki odurzające. Jednak również w krajach rozwiniętych coraz częściej zdarzają się przypadki fałszowania bardzo kosztownych produktów ratujących życie, takich jak leki przeciwnowotworowe, a także leków stosowanych powszechnie w chorobach cywilizacyjnych typu cukrzyca, schorzenia sercowo-naczyniowe czy hipercholesterolemia. Według zgłoszonych raportów do WHO kategorie sfalszowanych leków to: brak API (stwarzające bezpośrednie zagrożenie zdrowia, a nawet życia w przypadku leków ratujących życie), niedeklarowane składniki (mogą wywoływać poważne działania niepożądane), niewłaściwa zawartość API (zbyt mała ilość API nie wywołuje efektu farmakologicznego, przyczynia się do wytworzenia oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe i lekoopornych zakażeń, natomiast zbyt duża ilość API może być toksyczna i powodować działania niepożądane), sfalszowane opakowanie, znaczna ilość zanieczyszczeń i wierna kopia produktu oryginalnego.

Kolejnym, ale równie poważnym problemem jest stosowanie legalnych produktów leczniczych **niezgodnie z przeznaczeniem**. Są to przede wszystkim dostępne bez recepty produkty lecznicze stosowane w celu odurzania się (pseudoefedryna, kodeina, benzydamina, czy opisane w pracy **B5**: dekstrometorfan, difenhydramina) oraz wydawane z przepisu lekarza i nadużywane opioidy (tramadol, fentanyl, morfina), benzodiazepiny, niebenzodiazepinowe leki nasenne czy leki nasenne stosowane w celach przestępczych jako tabletki gwałtu (GHB, flunitrazepam). Ponadto z leków zawierających pseudoefedrynę wytwarza się nielegalnie metkatynon i metamfetaminę na masową skalę⁷, jak również w warunkach domowych⁸. Kolejną grupę leków stosowanych niezgodnie z przeznaczeniem stanowią produkty dopuszczone do obrotu na terenie RP, których substancją czynną jest mizoprostol (*Cytotec* i *Arthrotec*). W celu wywołania aborcji farmakologicznej wykorzystuje się działania niepożądane mizoprostolu, czyli wywoływanie silnych skurczów macicy, co w konsekwencji może prowadzić do poronienia lub wystąpienia wrodzonych wad u płodu. W nielegalnej aborcji stosowane są także dostępne w internecie tańsze, nielegalne produkty zawierające mizoprostol lub mifepriston, czy sfalszowane produkty zawierające inne niedeklarowane substancje farmakologicznie aktywne. Stosowanie tabletek nieznanego pochodzenia czy przeznaczenia w celach poronnych, bez lekarskiego nadzoru, wiąże się z poważnym narażeniem zdrowia, a nawet życia matki i dziecka (**B4**).

⁷ A. Olek, R. Bachliński; Synteza metamfetaminy metodą redukcijnego aminowania za pomocą amalgamatu glinu – przykład z nielegalnego polskiego laboratorium, *Problemy kryminalistyki*, 263 (2009) 54

⁸ A. Kałwa, B. Habrat, Zaburzenia funkcji poznawczych spowodowane nadmierną ekspozycją na związki manganu. Zaburzenia funkcji poznawczych u dożylnych użytkowników preparatów efedronu (metkatynonu), *Psychiatr. Pol.* 49 (2015) 305–314

Problem fałszowania leków został poruszony na arenie międzynarodowej po raz pierwszy na konferencji WHO w 1985 r. Od tego czasu powstało wiele organizacji i instytucji międzynarodowych oraz państwowych zaangażowanych w walkę z przestępczością farmaceutyczną. Aktywne działania w tym zakresie prowadzi Rada Europy, która zainicjowała prace nad konwencją *Medicrime*⁹ (dokument prawny, uznający fałszowanie leków za przestępstwo, co umożliwia efektywne zwalczanie przestępstw farmaceutycznych i penalizację). Konwencja ta wspiera również współpracę krajową i międzynarodową. Do chwili obecnej Konwencję podpisało 28 państw (w tym trzy niebędące członkami Rady Europy), natomiast 15 ratyfikowało. Polska do tej pory nie podpisała Konwencji, aczkolwiek w ostatnim czasie wznowione zostały działania w tym kierunku.

Europejski Dyrektoriat ds. Jakości Leków i Ochrony Zdrowia (*European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, EDQM*), będący agendą Rady Europy, koordynuje pracę sieci Państwowych Laboratoriów Kontroli Jakości Produktów Leczniczych (*Official Medicines Control Laboratories Network, OMCL*). Laboratoria te (w tym także Narodowy Instytut Leków) zajmują się nie tylko kontrolą jakości i bezpieczeństwem produktów medycznych znajdujących się na rynku danego kraju, ale również w ramach współpracy, wymianą informacji i doświadczeń w grupie roboczej zajmującej się problemem produktów sfalszowanych i nielegalnych w sieci OMCL (***Anti-Counterfeit/Illegal Medicines Working Group***), której jestem aktywnym członkiem. W ramach wymiany doświadczeń, pierwsze szkolenie dla członków sieci odbyło się w NIL.

Inne instytucje Unii Europejskiej odpowiedzialne za walkę ze zjawiskiem fałszowania leków to Parlament Europejski (Dyrektywa 2011/62/EU *Falsified Medicines Directive* tzw. Dyrektywa Fałszywkowa), wydziały Komisji Europejskiej: Dyrekcja Generalna ds. Zdrowia i Konsumentów (*Directorate-General for Health and Consumers*) oraz Dyrekcja Generalna ds. Podatków i Unii Celnej (*Directorate-General for Taxation and Customs Union*).

Dyrektywa Fałszywkowa¹⁰, obowiązująca w Polsce od 9 lutego 2019 r., wprowadza procedurę weryfikacji autentyczności leków i obowiązek umieszczania na ich opakowaniach podwójnych zabezpieczeń (serializację), co ma na celu wykrywanie przypadków zafałszowania produktów leczniczych dystrybuowanych w legalnym łańcuchu. Niemniej jednak działanie to może to być niewystarczające, gdyż stwierdzenie nieprawidłowości jedynie w obszarze oznakowania, bez analitycznego zbadania rzeczywistego składu produktu i surowców, nie wyeliminuje problemu fałszerstw, a tym samym zagrożeń związanych ze stosowaniem takich produktów (**B7**). Przykładem takiej sytuacji może być tzw. kryzys

⁹ Council of Europe, *Medicrime Convention*: Council of Europe Convention on the counterfeiting of medical products and similar crimes involving threats to public health, <https://www.coe.int/en/web/medicrime/the-medicrime-convention> [dostęp: 12.12.2018]

¹⁰ European Union. Directive 2011/62/EU of the European Parliament and of the Council of 8 June 2011 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use, as regards the prevention of the entry into the legal supply chain of falsified medicinal products. Official J Eur Union 74 (2011) 74–87

heparynowy ze sfalszowanym surowcem (heparyną) sprowadzanym z Chin, który zawierał domieszki innej substancji, o czym nie wiedzieli nawet wytwórcy leków¹¹. Dopiero dzięki dodatkowym badaniom analitycznym zidentyfikowano niedeklarowane i stanowiące zagrożenie składniki.

W Polsce od 2007 r. działa powołany przez Ministra Zdrowia Zespół do Spraw Fałszowania i Nielegalnego Obrotu Produktami Leczniczymi oraz Innymi Sfalszowanymi Produktami Spełniającymi Kryteria Produktu Leczniczego^{12,13}, w którego posiedzeniach uczestniczę jako ekspert.

Narodowy Instytut Leków jako OMCL prężnie działa od 2006 r. w obszarze przeciwdziałania fałszowaniu produktów leczniczych i **analizy farmaceutyczno-kryminalistycznej**. Pionierem tych działań podjętych w NIL był prof. dr hab. Z. E. Fijałek, wieloletni dyrektor NIL oraz kierownik Zakładu Chemii Farmaceutycznej NIL^{14,15,16} (**B2, B3**). Działania te zostały również zauważone i docenione na arenie krajowej i międzynarodowej.

Sfalszowane i nielegalne suplementy diety

Ze względu na dystrybucję suplementów diety poprzez obrót apteczny oraz ich postać analogiczną do postaci farmaceutycznej produktów leczniczych, są one często mylone przez pacjentów z lekami. Jednak z prawnego punktu widzenia są to dwie zupełnie odmienne kategorie. Leki mają za zadanie leczyć bądź zapobiegać chorobom, natomiast suplementy diety są środkami spożywczymi przeznaczonymi do uzupełniania niedoborów diety i nie można im przypisywać efektu terapeutycznego. Według ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia art. 3. 3. 39):

suplement diety to środek spożywczy, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety, będący skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny, pojedynczych lub złożonych, wprowadzany do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie, w postaci: kapsułek, tabletek, drażetek i w innych podobnych postaciach, saszetek z proszkiem, ampułek z płynem, butelek z kroplomierzem i w innych podobnych postaciach płynów i proszków przeznaczonych do spożywania w małych, odmierzonych ilościach jednostkowych, z wyłączeniem produktów posiadających właściwości produktu leczniczego w rozumieniu przepisów prawa farmaceutycznego.

¹¹ Z. Fijałek, Farmacja po kryzysie heparynowym. Czy możliwa jest skuteczna ochrona pacjentów przed substandardowymi i sfalszowanymi produktami? Przemysł Farmaceutyczny 2 (2012)

¹² Zarządzenie Ministra Zdrowia z dnia 12 listopada 2007 r. w sprawie powołania Zespołu do Spraw Sfalszowanych Produktów Leczniczych, Dz. Urz. MZ 2007 nr 17, poz. 92.

¹³ Zarządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 września 2010 r. w sprawie powołania Zespołu do Spraw Fałszowania i Nielegalnego Obrotu Produktami Leczniczymi oraz Innymi Sfalszowanymi Produktami Spełniającymi Kryteria Produktu Leczniczego, Dz. Urz. MZ 2010 nr 11, poz. 67.

¹⁴ Z. Fijałek, K. Sarna, Fałszowanie leków i inne przestępstwa farmaceutyczne, Problemy Kryminalistyki 263 (2009) 5-11

¹⁵ Z. Fijałek, K. Sarna, Na czarnym rynku, Przemysł Farmaceutyczny 6 (2013) 32-35

¹⁶ Z. Fijałek, K. Sarna, Sfalszowane leki, wyroby medyczne i suplementy diety, w: Leki a zdrowie publiczne. Wybrane zagadnienia. Część 3, red. P. Januszewicz, M. Binkowska-Bury, Z. E. Fijałek, Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów (2012)

Trudności z jednoznacznym zakwalifikowaniem do jednej z powyższych kategorii stwarzają tzw. **produkty z pogranicza** (*borderline products*), z uwagi na swój skład i właściwości, a wątpliwości te kierowane są m.in. do Komisji Produktów z Pogranicza - organu opiniodawczo-doradczego Prezesa Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (URPL, WM i PB), którego jestem członkiem.

Proces legislacyjny leków i suplementów diety jest znacząco różny. Prostsza i tańsza procedura notyfikacji suplementów diety, wymagająca jedynie zgłoszenia do Głównego Inspektora Sanitarnego powiadomienia o pierwszym wprowadzeniu do obrotu, implikuje pojawianie się coraz większej liczby tego typu produktów na polskim rynku. W powiadomieniu podmiot wprowadzający zobowiązany jest do podania składu jakościowego i ilościowego składników zawartych w produkcie, nie są natomiast wymagane wyniki badań analitycznych produktu. W odróżnieniu od produktów leczniczych, w przypadku suplementów diety nie ma konieczności udowodnienia skuteczności i bezpieczeństwa ich stosowania przed wprowadzeniem do obrotu, nie są również wymagane badania kliniczne, a szkodliwość suplementów jest rozpatrywana dopiero w sytuacji wycofania produktu z obrotu, w przypadku stwierdzenia np. niezgodnego składu czy innych zagrożeń¹⁷. Niestety nie prowadzi się również regularnej ustawowej kontroli jakości suplementów, tak jak ma to miejsce w przypadku produktów leczniczych, wobec czego ewentualna obecność substancji niedeklarowanych nie jest rutynowo badana. Ponadto sprzedaż suplementów może odbywać się nie tylko w aptekach i punktach aptecznych, ale też w obrocie pozaaptecznym, przede wszystkim w sklepach internetowych.

Aspekty te wpływają na łatwość fałszowania suplementów diety przez nieuczciwych wytwórców przede wszystkim poprzez celowe dodanie niedeklarowanych aktywnych substancji farmaceutycznych na etapie produkcji suplementów, aby wspomóc, a wręcz uzyskać przypisane produktowi działanie. Potwierdzone są również przypadki zafałszowań suplementów diety substancjami aktywnymi farmakologicznie wycofanymi ze stosowania ze względu na silne działanie niepożądane (**H1**), substancjami, które są dopiero w fazie badań klinicznych i nie zostały jeszcze dopuszczone do stosowania w lecznictwie (**H3**), czy nawet takimi, dla których badania kliniczne nie zostały przeprowadzone lub substancjami pochodzącymi z etapu poszukiwania związku o najlepszych właściwościach, ale w toku badań odrzuconymi ze względu na negatywną ocenę korzyści do ryzyka. Przykładem tej ostatniej grupy są suplementy diety deklarowane jako zawierające składniki wyłącznie pochodzenia roślinnego, a w rzeczywistości zawierające nowe pochodne API (**A13**). To przede wszystkim suplementy diety przeznaczone dla mężczyzn cierpiących na dysfunkcje erekcji, zawierające niedeklarowane pochodne związków należących do grupy inhibitorów fosfodiesterazy typu 5 (PDE-5): sydenafilu, tadalafilu i wardenafilu. Obecnie zidentyfikowanych jest już ponad 50

¹⁷ E.L. Anuszevska, Suplementy diety jako problem zdrowia publicznego w: Leki a zdrowie publiczne. Wybrane zagadnienia. Część 3, pod red. P. Januszewicz, M. Binkowska-Bury, Z.E. Fijałek, Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów (2012) 52-68

różnych ich analogów¹⁸. Wszelkie dane dotyczące tych substancji, w tym drogi syntezy, są łatwo dostępne w dokumentacji patentowej, jednakże właściwości farmakologiczne, farmakokinetyczne, ich toksyczność i siła działania nie są do końca zbadane. Przeważnie są to substancje silnie działające, przeciwwskazane u osób ze schorzeniami sercowo-naczyniowymi a dodatkowo mogące wchodzić w interakcje z innymi lekami przyjmowanymi przez pacjenta.

W ostatnich latach obserwuje się ciągły wzrost liczby doniesień o sfalszowanych suplementach diety, a fałszerze znajdują coraz bardziej wyrafinowane metody polegające na dodatku syntetycznych substancji utrudniające wykrycie fałszerstwa. Takim przykładem może być wbudowanie cząsteczek tadalafilu w żelatynową kapsułkę, co powoduje, że przy rutynowej analizie możemy uzyskać wynik fałszywie negatywny¹⁹.

Dzięki badaniom naukowym prowadzonym w pracowni, którą kieruję, ujawniono w legalnej sieci aptek podrobione suplementy diety, które mogą być niebezpieczne dla zdrowia i życia nieświadomego pacjenta. Na podstawie uzyskanych wyników i działając zgodnie z art. 108 ust. 4 pkt.3 ustawy Prawo farmaceutyczne z dnia 6.09.2001 r. Główny Inspektor Farmaceutyczny wycofał z obrotu na terenie całego kraju suplementy diety zawierające niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie²⁰.

Nasze najnowsze wyniki badanych suplementów diety z legalnego rynku wskazują, że są w nich obecne substancje z grupy selektywnych modulatorów receptora androgenowego (SARM), stosowane również w dopingu.

Substancje stosowane w dopingu

Odrębną kategorię produktów zawierających niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie, stanowią preparaty stosowane nielegalnie w dopingu. Doping towarzyszy sportowcom już od czasów starożytnych, jednakże intensywna walka z nim rozpoczęła się dopiero w drugiej połowie XX wieku. Według Światowego Kodeksu Antydopingowego opublikowanego przez Światową Organizację Antydopingową (*World Anti-Doping Agency*, WADA) w 2015 r. doping to naruszenie jednej lub większej ilości zasad określonych w artykułach 2.1-2.10, wśród których znajdują się: 1. *obecność substancji niedozwolonej, jej metabolitów lub markerów w próbce fizjologicznej zawodnika*; 2. *użycie albo próbie użycia przez zawodnika substancji lub metody niedozwolonej*; 6. *posiadanie substancji niedozwolonej lub stosowanie metody niedozwolonej*; 7. *handel lub usiłowanie handlowania jakąkolwiek substancją lub metodą niedozwoloną*²¹. Jednym z podstawowych dokumentów

¹⁸ D.N. Patel, L. Li, C.L. Kee, X. Ge, M.Y. Low et al., Screening of synthetic PDE-5 inhibitors and their analogues as adulterants: analytical techniques and challenges, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 87 (2014) 176-190

¹⁹ B.J. Venhuis, J. Tan, M.J. Vredenburg, X. Ge, M.Y. Low et al., Capsule shells adulterated with tadalafil, *Forensic Sci. Int.* 214 (2012) e20–e22

²⁰ https://www.gif.gov.pl/download/1/3756/repgifpdf-yWSWS_2010-10-08-013.pdf [dostęp 10.01.2019].

²¹ <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada-2015-world-anti-doping-code.pdf> [dostęp 10.01.2019]

odnośnie regulacji antydopingowych w sporcie jest Lista Substancji i Metod Zabronionych (Lista), uaktualniana co roku. Na najnowszej Liście obowiązującej od 1 stycznia 2019 roku²² znajdują się związki przypisane do następujących grup: substancje niezatwierdzone (S0), środki anaboliczne (S1), hormony peptydowe, czynniki wzrostu, substancje pokrewne i mimetyki (S2), beta-2 agoniści (S3), modulatory hormonów i metabolizmu (S4), diuretyki i inne środki maskujące (S5), stymulanty (S6), narkotyki (S7), kannabinoidy (S8), glikokortykoidy (S9), beta-blokery (P1). Istotne jest to, że Lista ta ma charakter otwarty. Dla niektórych grup związków, w tym stymulantów, podano jedynie przykłady substancji dopingujących, zastrzegając, że zabronione są także inne substancje o podobnej strukturze chemicznej lub podobnym działaniu biologicznym. Ponadto w punkcie S0 zdefiniowane są substancje niezatwierdzone - jest to: *Każda substancja farmakologiczna, której nie ujęto w żadnej z dalszych sekcji Listy i dla której żaden rządowy organ regulacyjny do spraw zdrowia nie wydał pozwolenia na dopuszczenie do obrotu jako produktu leczniczego stosowanego u ludzi (np. leki będące w fazie badań przedklinicznych lub klinicznych lub nad którymi badania zostały wstrzymane, zmodyfikowane narkotyki, substancje zatwierdzone do stosowania tylko w weterynarii) jest substancją zabronioną w sporcie, w każdym czasie.*

To właśnie obecność takich otwartych zapisów pozwala z jednej strony na szybką reakcję w przypadku użycia przez sportowców nowych substancji aktywnych farmakologicznie, w tym tych specjalnie stworzonych jako środki dopingujące²³, ale jednocześnie stawia przed laboratoriami kontrolnymi największe wyzwania poprzez konieczność identyfikowania zupełnie nowych substancji aktywnych farmakologicznie.

Najpopularniejszą grupą środków stosowanych w dopingu, w celu zwiększenia masy mięśni, siły i wytrzymałości, są steroidy anaboliczno-androgenne (*Anabolic Androgenic Steroids*, AAS). Corocznie na całym świecie w akredytowanych laboratoriach WADA to właśnie one wykrywane są w największych ilościach w próbkach pobranych od zawodników. W 2017 r. stanowiły one 44 % spośród wszystkich niekorzystnych wyników badań otrzymanych łącznie we wszystkich laboratoriach WADA oraz 87 % wśród niepewnych wyników, wymagających dalszego badania²⁴. Na drugim miejscu uplasowały się diuretyki i inne środki maskujące (15 %), a na trzecim stymulanty (14 %). Hormony peptydowe i czynniki wzrostu stanowiły 3 % wszystkich zidentyfikowanych substancji dopingowych, jednakże otrzymano 12 % (drugie miejsca po AAS) niepewnych wyników, wymagających dalszego badania. Ponadto od 2014 r. obserwuje się znaczący przyrost wykrywanych przypadków próbek zawierających peptydy uwalniające hormon wzrostu (GHRP)²⁵.

²² https://www.wada-ama.org/sites/default/files/wada_2019_english_prohibited_list.pdf [dostęp 10.01.2019]

²³ Rynkowski M. red.: Antydoping w Polsce. Komisja do Zwalczania Dopingu w Polsce, Warszawa. 2014

²⁴ https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2017_anti-doping_testing_figures_en_0.pdf [dostęp 10.01.2019]

²⁵ https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/20180614_2018_testingfiguresreport_executive_summary_en.pdf; [dostęp 10.01.2019]

Preparaty z AAS są również najbardziej rozpowszechnione od lat na czarnym rynku. Potwierdzają to również wyniki badań próbek zabezpieczonych materiałów dowodowych kierowanych do naszego laboratorium (**B3**). Najbardziej popularnymi steroidami są estry testosteronu, nandrolonu oraz trenbolonu takie jak octan, cypionian, propionian, fenylopropionian, izokapronian oraz dekanian. Najczęściej fałszowane produkty lecznicze na naszym rynku, obok środków zawierających inhibitory fosfodiesterazy 5 (*Viagra*, *Cialis*, *Levitra*), to właśnie te zawierające steroidy anaboliczno androgenne (*Omnadren*, *Testosteronum prolongatum*). Stosowanie produktów zawierających steroidy anaboliczno-androgenne z nieznanego źródła i poza kontrolą lekarza niesie ze sobą poważne konsekwencje. Problem ten dodatkowo pogłębia fakt, że są one często zanieczyszczone pozostałościami po produkcji lub nie spełniają wymogów jakościowych, a jest to szczególnie niebezpieczne w przypadku preparatów stosowanych w postaci iniekcji domięśniowych.

W ostatnim czasie obserwuje się wzrost liczby potencjalnych leków peptydowych, wśród których wiele znajduje się jeszcze w trakcie badań klinicznych. Przekłada to się na dostępność hormonów peptydowych, czynników wzrostu oraz hormonów uwalniających hormon wzrostu na nielegalnym rynku. Do peptydów zidentyfikowanych w pracowni, którą kieruję, należą: fragmenty hormonu wzrostu: AOD 9604, hGH 176-191, analogi hormonu uwalniającego hormon wzrostu: CJC-1295, peptydy uwalniające hormon wzrostu (GHRPs): GHRP-2, GHRP-6, nowy analog GHRP-2 (**H6**) oraz inne: melanotan II, BP-157, argirelina, czy rekombinowany hormon wzrostu somatotropina. Warto zwrócić uwagę na to, że z roku na rok zwiększa się liczba oraz różnorodność identyfikowanych substancji peptydowych²⁶.

Przykładem ilustrującym jak fałszowane mogą być leki, jest produkt *Pregnyl 5000 IU* pochodzący z nielegalnego obrotu, który trafił do NIL do badania. Zgodnie z charakterystyką produktu leczniczego oraz deklaracją na opakowaniu jego substancją czynną jest ludzka gonadotropina kosmówkowa (hCG). Substancja ta stosowana jest w dopingu do stymulowania produkcji testosteronu. Jednak toku badań tego produktu okazało się, że nie zawiera on hCG, a glikokortykosteroid - bursztynian metyloprednizolonu.

Nowe narkotyki syntetyczne

„Dopalacze”, *legal highs*, *herbal highs* (dla roślinnych produktów), narkotyki projektowane (*designer drugs*), odczynniki do badań (*research chemicals*, *RCs*) to potocznie używane terminy grupy różnych substancji lub ich mieszanek o działaniu psychoaktywnym, nieznajdujących się w danym czasie na listach substancji kontrolowanych. Problem „dopalaczy” ma charakter ogólnoświatowy. Środki tego rodzaju są produkowane głównie po to, aby ominąć obowiązujące zakazy antynarkotykowe, stąd ich skład chemiczny ulega ciągłej ewolucji. Nawet niewielka modyfikacja strukturalna związku kontrolowanego prowadzi do otrzymania związku o innej strukturze, posiadającego właściwości psychoaktywne, lecz

²⁶ R.A. Hartvig, N.B. Holm, P. W. Dalgaard, L.A. Reitzel, I.B. Müller, K. Linnet, Identification of peptide and protein doping related drug compounds confiscated in Denmark between 2007-2013, *Scandinavian Journal of Forensic Science* 20 (2014) 42-49

o nieznanych do końca właściwości farmakologicznych, toksykologicznych i bez udowodnionego bezpieczeństwa stosowania, stwarzając tym samym poważne zagrożenie dla zdrowia i życia.

W ustawodawstwie unijnym definiuje się je jako nowe substancje psychoaktywne (**NPS**). Dyrektywa Parlamentu Europejskiego oraz Rady Unii Europejskiej 2017/2103 z dnia 15 listopada 2017 r. zmieniająca decyzję ramową Rady 2004/757/WSiSW w celu włączenia nowych substancji psychoaktywnych do definicji narkotyku i uchylająca decyzję Rady 2005/387/WSiSW²⁷ wprowadziła zmodyfikowaną definicję NPS wg której:

nowa substancja psychoaktywna oznacza substancję w formie czystej lub w formie preparatu nieobjętą zakresem stosowania Jednolitej konwencji Narodów Zjednoczonych o środkach odurzających z 1961 r., zmienionej protokołem z 1972 r., ani Konwencji Narodów Zjednoczonych o substancjach psychotropowych z 1971 r., lecz mogącą stwarzać zagrożenia dla zdrowia lub zagrożenia społeczne podobne do zagrożeń stwarzanych przez substancje objęte zakresem stosowania tych konwencji.

W polskim prawodawstwie problematykę środków psychoaktywnych reguluje Ustawa z dnia 29 lipca 2005 roku o przeciwdziałaniu narkomanii (Dz. U. 2005 Nr 179 poz. 1485, z późn. zm.), która była nowelizowana w ostatnich latach kilkakrotnie, przede wszystkim w celu zdefiniowania pojęcia nowej substancji psychoaktywnej i środka zastępczego oraz objęcia kontrolą większej liczby NPS. Wg najnowszej nowelizacji - ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o zmianie ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii oraz ustawy o Państwowej Inspekcji Sanitarnej (Dz. U. poz. 1490):

nowa substancja psychoaktywna oznacza każdą substancję lub grupy substancji pochodzenia naturalnego lub syntetycznego w formie czystej lub w formie preparatu działającą na ośrodkowy układ nerwowy, inną niż substancja psychotropowa i środek odurzający, stwarzającą zgodnie z rekomendacją Zespołu do spraw oceny ryzyka zagrożeń dla zdrowia lub życia ludzi związanych z używaniem nowych substancji psychoaktywnych, o której mowa w art. 18b ust. 1 pkt 3, zagrożenia dla zdrowia lub zagrożenia społeczne porównywalne do zagrożeń stwarzanych przez substancję psychotropową lub środek odurzający, lub które naśladują działanie tych substancji, określonych w przepisach wydanych na podstawie art. 44f pkt 3;

środek zastępczy – produkt zawierający substancję o działaniu na ośrodkowy układ nerwowy, który może być użyty w takich samych celach jak środek odurzający, substancja psychotropowa lub nowa substancja psychoaktywna, których wytwarzanie i wprowadzanie do obrotu nie jest regulowane na podstawie przepisów odrębnych; do środków zastępczych nie stosuje się przepisów o ogólnym bezpieczeństwie produktów;

W wyniku kolejnych nowelizacji w latach 2005-2015 objęto kontrolą dodatkowe substancje. Przykładowo, w 2011 roku objęto kontrolą 23 substancje psychoaktywne, a w następnej nowelizacji, która miała miejsce dopiero po czterech latach, na listach substancji

²⁷ Directive (EU) 2017/2103 of the European Parliament and of the Council of 15 November 2017 amending Council Framework Decision 2004/757/JHA in order to include new psychoactive substances in the definition of 'drug' and repealing Council Decision 2005/387/JHA, Official Journal of the European Union L 305/12, Volume 60, 21.11.2017 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017L2103&from=en>

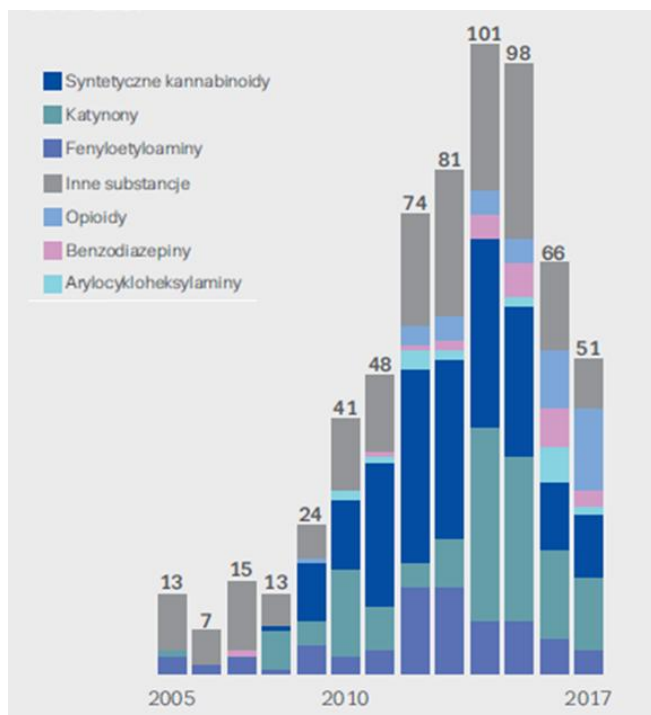
kontrolowanych pojawiło się 114 kolejnych NPS. Jednakże uzupełnianie listy substancji kontrolowanych o konkretne substancje psychoaktywne jest zbyt długotrwałym procesem, ponadto skutkuje wprowadzaniem na rynek kolejnych zmodyfikowanych, ale "legalnych" analogów już zakazanych substancji psychoaktywnych. Dopiero ostatnia nowelizacja z 2018 r. wraz z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 17 sierpnia 2018 r. w sprawie wykazu substancji psychotropowych, środków odurzających oraz nowych substancji psychoaktywnych (Dz. U. 2018 poz. 1591), wprowadziła dla kilku grup NPS charakter generyczny. W Wykazie Nowych Substancji Psychoaktywnych, stanowiącym Załącznik nr 3 do w/w rozporządzenia, możemy wyróżnić obok grupy 1), zawierającej listę 31 substancji z określeniem ich nazw, także cztery grupy otwarte, zawierające podstawowy rdzeń cząsteczki oraz zdefiniowane możliwe podstawniki, obejmujące większość substancji z danej grupy:

- 2) pochodne 2-feniloetyloaminy – grupa I-NPS,
- 3) pochodne katynonu (2-amino-1-fenilopropan-1-onu) – grupa II-NPS,
- 4) syntetyczne kannabinoidy (kannabinomimetyki) – grupa III-NPS,
- 5) pochodne fentanylu – grupa IV-NPS.

Obowiązujące od dnia 23 listopada 2018 r. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego oraz Rady Unii Europejskiej 2017/2101 z dnia 15 listopada 2017 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1920/2006 w zakresie wymiany informacji, systemu wczesnego ostrzegania oraz procedury oceny zagrożeń w odniesieniu do nowych substancji psychoaktywnych²⁸ podkreśla jak ważny jest to problem, gdyż *„nowe substancje psychoaktywne mogą stwarzać poważne transgraniczne zagrożenia dla zdrowia – w szczególności ze względu na dużą liczbę i różnorodność tych substancji oraz ich tempo pojawiania się. W celu opracowania reakcji na te zagrożenia konieczne jest wzmocnienie monitorowania i systemu wczesnego ostrzegania oraz przeprowadzenie oceny zagrożeń dla zdrowia i zagrożeń społecznych związanych z nowymi substancjami psychoaktywnymi. (.....) Nowymi substancjami psychoaktywnymi, które stwarzają zagrożenia dla zdrowia publicznego oraz, w stosownych przypadkach, zagrożenia społeczne w całej Unii, należy zająć się na poziomie Unii”*.

W lipcu 2015 r. na podstawie art. 18a ust. 1 ustawy z dnia 29 lipca 2005 r. o przeciwdziałaniu narkomanii został powołany Zespół ds. oceny ryzyka zagrożeń dla zdrowia lub życia ludzi związanych z używaniem nowych substancji psychoaktywnych, który ocenia potencjalne zagrożenia dla zdrowia lub życia ludzi oraz możliwości powodowania szkód społecznych, a następnie rekomenduje Ministrowi Zdrowia umieszczanie niebezpiecznych substancji w rozporządzeniu. W 2018 r. zostałam powołana przez Ministra Zdrowia na członka tego zespołu.

²⁸ Official Journal of the European Union L 305/12, Volume 60, 21.11.2017, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2017:305:FULL&from=PL>



Rycina 1. Liczba i kategorie nowych substancji psychoaktywnych zgłoszonych do systemu wczesnego ostrzegania po raz pierwszy 2005-2017²⁹.

Dotychczas ponad 670 NPS zostało zgłoszonych do Europejskiego Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (EMCDDA) za pośrednictwem Systemu Wczesnego Ostrzegania (*Early Warning System, EWS*)²⁹. Około 70 % z tych substancji zostało zareportowanych w ciągu ostatnich sześciu lat (praktycznie zgłaszano 1-2 nowe substancje w każdym tygodniu). W 2017 r. wykryto po raz pierwszy 51 nowych substancji (Ryc. 1). Wśród wszystkich monitorowanych grup substancji najliczniejszą grupę stanowią syntetyczne kannabinoidy (179), następnie pochodne katynonu (130) i feniloetyloaminy (94).

Niepokojącym zjawiskiem jest pojawienie się substancji z grupy opioidów, zwłaszcza pochodnych fentanylu, oraz to, że z roku na rok

rośnie liczba identyfikowanych jego nowych analogów. Do końca 2017 r. wykryto na europejskim rynku narkotyków 38 nowych opioidów, w tym 28 pochodnych fentanylu, z czego aż 10 pochodnych fentanylu zgłoszono po raz pierwszy w 2017 r. Ze względu na bardzo dużą siłę działania, łatwość uzależnienia i duże ryzyko przedawkowania ze skutkiem śmiertelnym (z powodu depresji oddechowej) stanowią one poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Inną grupą, która budzi szczególne obawy są nowe benzodiazepiny, niezarejestrowane pochodne leków dopuszczonych do stosowania w lecznictwie. EMCDDA monitoruje obecnie 23 nowe benzodiazepiny. Liczba wykrywanych każdego roku nowych substancji jest tylko jednym z szeregu wskaźników wykorzystywanych przez EMCDDA, w celu oceny sytuacji na całym rynku narkotykowym.

W ciągu ostatnich 10 lat w pracowni, której jestem kierownikiem, przebadaliśmy prawie siedem tysięcy próbek środków zastępczych („dopalaczy”), w których zostało wykrytych około **dwieście** NPS. Zidentyfikowaliśmy w tym czasie, po raz pierwszy na terenie UE, **trzydzieści** zupełnie nowych substancji psychoaktywnych, które poprzez Krajowe Biuro do spraw Przeciwdziałania Narkomanii (KBPN) zostały zgłoszone do Systemu Wczesnego Ostrzegania EMCDDA. Wśród nich było 12 nowych katynonów (scharakteryzowane w większości w pracach **H4** i **H7**), 5 kannabinoidów (dwa wskazano w **H2**), 8 opioidów

²⁹ European Monitoring Centre for Drug and Drug Addiction (2018) European drug report. Trends and development. Publications Office of the European Union, Luxembourg.

(w trakcie publikowania) oraz 5 związków z grupy innych (3 pochodne aminoreksu, metylofendimetrazyna czy pochodna kokainy – troparil, w trakcie publikowania).

W 2018 r. zespół ekspertów NIL zakończył realizację grantu „Identyfikacja i badania strukturalne nowych substancji psychoaktywnych w narkotykach syntetycznych ostatniej generacji metodami fizykochemii organicznej LC-MS, GC-MS i NMR” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN) oraz projektu badawczego „Dopalamy wiedzę. Pilotaż testowania substancji psychoaktywnych pozyskanych bezpośrednio od użytkowników tzw. "dopalaczy" w Polsce” realizowanego w ramach zadań określonych w Narodowym Programie Zdrowia (NPZ) na lata 2016-2020 pkt. 15 (Wspieranie badań naukowych w obszarze problemu narkotyków i narkomanii). Również w ramach zadań określonych w NPZ na lata 2016-2020 wraz z Oddziałem Toksykologii Instytutu Medycyny Pracy realizowany jest aktualnie, pod moim kierownictwem w NIL, projekt naukowy „DOPMED-System Rejestracji i Identyfikacji Zatruc Nowymi Substancjami Psychoaktywnymi w Polsce jako kluczowe źródło szybkiego reagowania na niepożądane skutki ich używania”.

Wg danych z rejestru prowadzonego przez Ośrodek Kontroli Zatruc-Warszawa, w latach 2013-2017 z całego kraju zostało zgłoszonych łącznie 19568 przypadków podejrzeń zatruc/zatruc NPS³⁰. Największa liczba zgłoszonych zdarzeń i związanych z nimi interwencji medycznych miała miejsce w 2015 r., szczególnie w lipcu, wraz wejściem w życie znowelizowanej ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii. W latach 2013-2017 do Ośrodka Kontroli Zatruc-Warszawa zostało zgłoszonych 60 przypadków zgonów w Polsce mogących mieć związek z użyciem nowych substancji psychoaktywnych, z czego tylko 16 zostało potwierdzonych badaniem toksykologiczno-sądowym. Natomiast według danych GIS³¹ liczba zatruc i podejrzeń zatruc przy udziale nowych narkotyków w Polsce w samym roku 2018 wyniosła 4257 oraz 65 zgonów, z czego najwięcej jednych i drugich odnotowano w województwach łódzkim i śląskim.

Sfałszowane i nielegalne produkty lecznicze, suplementy diety, substancje stosowane w dopingu oraz nowe narkotyki syntetyczne są wielkim wyzwaniem dla legislatorów i instytucji odpowiedzialnych za zdrowie publiczne, ale przede wszystkim, ze względu na specyfikę próbek, dla analityków laboratoriów instytucji kontrolnych.

W obliczu powyższych informacji, po to, aby fałszerze i przestępcy nie czuli się bezkarnie, ale przede wszystkim ze względu na bezpieczeństwo zdrowotne ludzi, celem prac w cyklu było opracowanie i wdrożenie metod analitycznych pozwalających na szybkie badanie przesiewowe w kierunku rzeczywistego składu produktów, a zwłaszcza metod umożliwiających identyfikowanie niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie.

³⁰ P. Burda, Epidemiologia i grupy ryzyka używania nowych substancji psychoaktywnych w: Standardy postępowania wobec osób używających nowych substancji psychoaktywnych (NSP) Poradnik dla pracowników medycznych pod redakcją M. Wojnara, Warszawa (2018)

³¹ <https://gis.gov.pl/landing-dopalacze/liczba-zatruc-podejrzen-zatruc-oraz-zgonow-przy-udziale-nowych-narkotykow-w-polsce-w-2018-r/> [dostęp 10.01.2019]

3.2. Metodyka badań

Konieczność identyfikowania nieznanych niedeklarowanych substancji w produktach nielegalnych i sfałszowanych wymaga ciągłego rozwoju technik wykorzystywanych do badań analitycznych w laboratoriach kryminalistycznych czy kontrolnych, wykonujących analizy na potrzeby organów publicznych.

Wśród wielu metod analitycznych umożliwiających identyfikację i ustalanie budowy cząsteczek związków organicznych, szczególne miejsce od dawna zajmuje spektrometria mas (MS), której podstawą jest pomiar stosunku masy do ładunku elektrycznego danego jonu m/z . Najbardziej rozpowszechniona w laboratoriach kryminalistycznych czy toksykologicznych jest spektrometria mas sprzężona z chromatografią gazową (GC-MS) z jonizacją strumieniem elektronów (EI). Metoda ta umożliwia identyfikację związków poprzez porównanie uzyskanego widma z widmem z baz danych, najczęściej bazą NIST (Narodowego Instytutu Standardów i Technologii). Widma GC-EI-MS, otrzymane przy energii jonizacji 70 eV, są niezmiennie - niezależnie od rodzaju aparatu, miejsca czy czasu analizy, tym niemniej niska intensywność jonów molekularnych, podobna fragmentacja zbliżonych strukturalnie związków i brak możliwości identyfikacji w przypadku braku widma w bazie, stwarza konieczność zastosowania innej metody, umożliwiającej pełną identyfikację. Efektywne metody identyfikacji niedeklarowanych związków powinny zapewniać nie tylko szybką ukierunkowaną/celowaną analizę (*target analysis*), w sytuacji, kiedy np.: porównujemy widmo analizowanej substancji z widmem referencyjnym w bibliotekach widm czy przeszukujemy pod kątem obecności konkretnego jonu, lub w trybie śledzenia wybranych reakcji fragmentacji (*Multiple Reaction Monitoring*, MRM), ale przede wszystkim analizę niecelowaną (*non-target analysis*), kiedy musimy zmierzyć się z nieznanym związkiem, który do tej pory nie był zidentyfikowany i opisany. W prostszej analizie celowanej możliwe jest zastosowanie wielu metod, takich jak GC-MS czy spektrometria mas z potrójnym kwadropolem sprzężona z chromatografią ciekłą (LC-QQQ-MS/MS). Natomiast w bardziej skomplikowanej i wymagającej analizie niecelowanej, jedną z najbardziej efektywnych metod badawczych w identyfikacji takich związków organicznych jest wysokorozdzielcza spektrometria mas z hybrydowym połączeniem kwadropola i analizatora czasu przelotu (QTOF-MS/MS), dodatkowo sprzężona z wysokosprawną chromatografią ciekłą (LC-QTOF-MS/MS). Metoda ta umożliwia zarówno analizę celowaną, jak i niecelowaną.

W metodzie QTOF-MS/MS, w pierwszym etapie wytwarzane są jony macierzyste związku, które przechodzą do pierwszego analizatora kwadropolowego (*quadrupole*, Q), gdzie są segregowane zależnie od m/z i dalej kierowane do komory kolizyjnej, w której dochodzi do ich zderzenia z obojętnymi cząsteczkami gazu kolizyjnego np. azotu. Powstałe w komorze kolizyjnej pod wpływem zderzenia (*collision induced dissociation*, CID) jony potomne kierowane są w stronę analizatora czasu przelotu (*time-of-flight*, TOF).

W analizatorze TOF zarówno jony macierzyste, jak i fragmentacyjne rozdzielane są w zależności od czasu, jaki potrzebują na przebycie drogi do detektora. Im mniejszy jest stosunek m/z jonu, tym większa będzie jego prędkość i krótszy czas przelotu do detektora. Zależność tę opisuje równanie:

$$t^2 = \frac{m}{z} \left(\frac{ed^2}{2U} \right)$$

gdzie: t – czas przelotu, m – masa cząsteczki, z – ładunek jonu, e – ładunek elementarny, d – długość drogi do detektora, U – różnica potencjałów pola elektrycznego.

Analizator czasu przelotu TOF umożliwia wyznaczenie składu elementarnego (przypisanie najbardziej prawdopodobnego wzoru sumarycznego) związku poprzez pomiar dokładnej masy oraz porównanie zgodności profilu izotopowego otrzymanego widma z teoretycznym. Najbardziej uniwersalnym źródłem jonów jest rozpraszanie w polu elektrycznym (*electrospray*, ESI), umożliwiające tzw. „miękką” jonizację, co znacznie ogranicza skłonność cząsteczek do fragmentacji podczas jonizacji. W efekcie na widmie można zarejestrować sygnał jonu macierzystego i jonów potomnych. ESI umożliwia zarówno jonizację dodatnią związków, wskutek czego powstają jony protonowane $[M+H]^+$, a także addukty m.in.: z jonami sodu $[M+Na]^+$, potasu $[M+K]^+$, amonu $[M+NH_4]^+$, jak i jonizację ujemną, podczas której powstają jony deprotonowane $[M-H]^-$, addukty z mrówczanem $[M+HCOO]^-$ czy jonami chloru $[M+Cl]^-$. Na widmie masowym obserwowane są więc pozorne jony molekularne tzw. pseudomolekularne. Źródło ESI pozwala na analizę dość szerokiego wachlarza związków o dużej i średniej polarności. To, co odróżnia ESI od innych typów jonizacji stosowanych w spektrometrii mas, to zdolność wytwarzania jonów wielokrotnie naładowanych, co znacznie rozszerza zakres mas analizowanych związków i daje możliwość badania polipeptydów i białek, których masy byłyby poza zasięgiem analizatora.

Analiza widm fragmentacyjnych w wielu przypadkach pozwala określić wzór strukturalny związku lub elementy jego struktury. Interpretacja widm masowych nieznanych związków nie jest łatwym zadaniem, wymaga od analityka dużego doświadczenia i znajomości możliwych ścieżek fragmentacji związków posiadających różne ugrupowania oraz logicznego powiązania wszystkich informacji zawartych w widmie masowym. Nie ma prostej procedury pozwalającej na identyfikację nieznanych związków, aczkolwiek są wskazówki, wedle których można postępować.

Identyfikacja opiera się na analizie widm masowych, fragmentacyjnych oraz profilu izotopowego związku, który jest konsekwencją występowania w przyrodzie poszczególnych izotopów danego pierwiastka o ściśle określonej abundancji. Jeśli substancja zawiera atom lub atomy o charakterystycznym rozkładzie izotopowym, takie jak chlor, siarka czy brom, to w widmie masowym obserwowane są piki (główne i fragmentacyjne zawierające dany atom) o profilu izotopowym charakterystycznym dla tych atomów.

W obszarze identyfikacji nieznanych związków zastosowanie wysokorozdzielczej tandemowej spektrometrii mas jest niezastąpione, gdyż widmo masowe fragmentacyjne

(MS/MS) jest charakterystyczne dla danego związku. Jedynie w przypadku związków bardzo podobnych do siebie (przeważnie izomerów konstytucyjnych mających ten sam skład pierwiastkowy, a tym samym tę samą masę cząsteczkową i taką samą wartość m/z jonu molekularnego) ścieżki fragmentacji mogą być bardzo zbliżone, czego efektem są podobne widma masowe MS/MS, aczkolwiek mogą być obserwowane niewielkie różnice w intensywności poszczególnych jonów fragmentacyjnych (przykład w pracy **H5**). Częściowo również ten problem można wyeliminować poprzez połączenie metody MS z wysokosprawną chromatografią cieczową i w efekcie rozdzielenie chromatograficzne poszczególnych związków poprzez zróżnicowanie ich czasów retencji (np. modyfikacja fazy ruchomej czy stacjonarnej). Zastosowanie szeregowego połączenia z nieniszczącą próbką detekcją spektrofotometryczną z matrycą diodową (*diode array detector*, DAD) przed detekcją MS może również pomóc w identyfikacji poprzez wyznaczenie długości fali przy maksimum absorpcji (przykład w pracy **H7**).

Jakkolwiek rozróżnianie związków izomerycznych, zarówno konstytucyjnych jak i konfiguracyjnych, na podstawie danych uzyskanych tylko przy zastosowaniu spektrometrii mas nie jest łatwe, to metoda ta jest jednak z powodzeniem stosowana w tym celu^{32,33}.

Ze względu na bardzo wysoką czułość metody MS możliwe jest wykonywanie pomiarów dla bardzo niskich stężeń analizowanych związków. Do badań wystarczą znikome ilości próbek, co ma istotne znaczenie w przypadku badania śladów zabezpieczonych materiałów dowodowych, zanieczyszczeń czy w badaniu substancji drogich bądź unikalnych. Dodatkowo, MS sprzężony z chromatografem cieczowym (LC-MS) umożliwia rozdział badanych substancji w mieszaninach i zwiększa czułość oznaczeń, co ma szczególne znaczenie w badaniu złożonych próbek biologicznych.

W badaniach identyfikacyjnych w pracach **H1 - H7** stosowano układ LC-ESI-QTOF-MS/MS, czyli chromatograf cieczowy Ultimate 3000 (DIONEX) sprzężony z tandemowym spektrometrem mas micrOTOF-QII (Bruker Daltonik) o dokładności pomiaru masy (definiowanej jako różnica między teoretyczną masą jonu a masą zmierzoną) poniżej 5 ppm i rozdzielczości specyfikowanej 17500 (definiowanej jako zdolność do rozdzielenia jonów o bardzo podobnej wartości m/z) lub maXis 4G (Bruker Daltonik) o dokładności pomiaru masy poniżej 2 ppm i rozdzielczości specyfikowanej 60000. Parametry takie zapewniają wysoką selektywność w analizach złożonych mieszanin i bardzo często jednoznaczną identyfikację nieznanymi substancji.

³² D. Resende, E. Silva, C. Barros, et al.; Tandem mass spectrometry based investigation of cinnamylidene acetophenone derivatives: valuable tool for the differentiation of positional isomers, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25 (2011) 3185-3195

³³ A. Schwarzenberg, H. Dossmann, R. B. Cole, X. Machuron-Mandard, J. C. Tabet; Differentiation of isomeric dinitrotoluenes and aminodinitrotoluenes using electrospray high resolution mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* 49 (2014) 1330-1337

Aby potwierdzić uzyskane przy zastosowaniu metody wysokorozdzielczej spektrometrii mas struktury nowych nieznanych związków, zwłaszcza takich, dla których nie były dostępne materiały odniesienia, stosowano spektrometrię jądrowego rezonansu magnetycznego (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR), przeprowadzając eksperymenty 1D i 2D NMR: ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC i HMBC (omówione w pracy **H2**). Analizy NMR były wykonywane przez zespół ekspertów techniki NMR w NIL.

3.3. Omówienie wyników

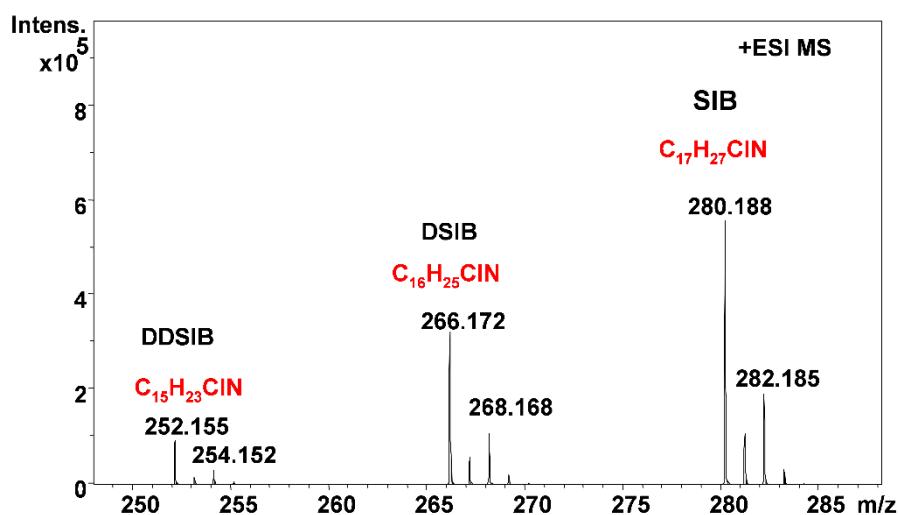
Pełna analiza produktów nielegalnych i podejrzewanych o sfałszowanie ma szczególne znaczenie dla określenia czy produkty te zawierają potencjalnie toksyczne składniki i tym samym czy stwarzają zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi. Identyfikację takich składników w wybranych badanych próbkach opisałam w pracach **H1 - H7**.

W dobie kultu ciała i urody, rynek zalewany jest przez różnego rodzaju preparaty odchudzające. Od dłuższego czasu wykrywam wśród nich produkty deklarowane jako ziołowe, które w swoim składzie obok lub zamiast składników roślinnych zawierają silnie działające niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie (**H1**).

Produkty te nie są z reguły wymienione w Rejestrze produktów objętych powiadomieniem o pierwszym wprowadzeniu do obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej prowadzonym przez Głównego Inspektora Sanitarnego, o którym mowa w art. 29 ust. 1 ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. W większości przypadków są one dystrybuowane nielegalnie za pośrednictwem internetu.

Wszystkie produkty, opisane szczegółowo w publikacji **H1**, zostały skierowane do badań przez policję i służbę celną w związku z podejrzeniem nielegalnego obrotu nimi. Na potrzeby analizy tego typu produktów opracowano schemat postępowania z próbkami niewiadomego pochodzenia i tok postępowania analitycznego. W pierwszym etapie przeprowadzono badania składu jakościowego metodami proszkowej dyfraktometrii rentgenowskiej (XRPD) oraz spektrometrii mas w celu identyfikacji składników, przede wszystkich tych niedeklarowanych. Dzięki zastosowaniu metody LC-QTOF-MS/MS można zidentyfikować substancje niedeklarowane (Ryc. 2), nawet w niewielkich ilościach, które nie były widoczne w badaniach metodą XRPD. Stwierdzono, że ponad 90 % analizowanych produktów ziołowych zawierało sybutraminę (SIB) lub *N*-dezmetilosybutraminę (DSIB), zamiast czystych składników ziołowych. Metoda XRPD dodatkowo umożliwiała określenie formy, w jakiej sybutramina występowała – głównie w postaci chlorowodoru sybutraminy jednowodnej. W niektórych produktach zidentyfikowałam oprócz substancji deklarowanych - również metodą LC-MS/MS - dodatkowe niedeklarowane związki, takie jak np. alloina i fenoloftaleina, związki o działaniu przeczyszczającym, stosowane nielegalnie w tego typu produktach. Do badań ilościowych SIB, DSIB i *N,N*-didezmetilosybutraminy (DDSIB) opracowano i zoptymalizowano metodę HPLC z detekcją kulometryczną (*coulometric electrode array detection*, CEAD) oraz spektrofotometryczną (UV). Walidację przeprowadzono w oparciu o wytyczną CPMP/ICH/281/95 „*Note for Guidance on Validation*

of *Analytical Procedures: Methodology*". Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że opracowana metoda charakteryzuje się dobrą dokładnością i precyzją, jest czuła i selektywna, co potwierdza jej przydatność do oznaczeń ilościowych w produktach nielegalnych i sfałszowanych. Tak jak się spodziewano, metoda z detekcją kulometryczną okazała się czulsza niż z detekcją UV; dla SIB granica wykrywalności (LOD) wynosiła $7,5 \text{ ng ml}^{-1}$ a granica oznaczalności (LOQ) 25 ng ml^{-1} , podczas gdy dla detekcji UV wyznaczone wartości LOD i LOQ wynosiły odpowiednio $0,5 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ i $1,5 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$.



Rycina 2. Widmo masowe uzyskane dla roztworu zawierającego mieszaninę SIB, DSIB i DDSIB [H1].

Chlorowodorek sybutraminy do 2010 r. był dopuszczony do stosowania w leczeniu jako substancja odchudzająca o działaniu ośrodkowym i był aktywnym składnikiem legalnych produktów leczniczych takich jak: *Meridia*, *Zelixa* i *Lindaxa*, stosowanych pod kontrolą lekarza w leczeniu ciężkich przypadków otyłości. Leki te wydawane były jedynie z przepisu lekarza. W Polsce dopuszczone do obrotu były produkty zawierające SIB w dawkach 10 i 15 mg/kapsułkę, natomiast oznaczone ilości sybutraminy (19-28 mg/kapsułkę) w 64 % analizowanych preparatów, zadeklarowanych jako "naturalne i ziołowe", znacznie przekraczały dawki zarejestrowane. Ponadto bardzo niepokojąca była obecność DSIB, którą oznaczono w niektórych preparatach w ilości prawie dwukrotnie większej niż maksymalna dawka dobowo dla SIB, przy zalecanym na opakowaniu sposobie przyjmowania kapsułek (2-3 dziennie). Ponadto z danych literaturowych wynika, że DSIB jest pochodną sybutraminy o znacznie silniejszym od niej działaniu farmakologicznym³⁴, która nigdy nie była zarejestrowana jako substancja lecznicza, stąd jej obecność w produktach odchudzających powinna być dodatkowo kontrolowana.

Obie te substancje powodują poważne i niebezpieczne dla życia skutki uboczne, a ryzyko związane ze stosowaniem tych związków jest znacznie większe niż korzyści. Europejska Agencja Leków (EMA), po zapoznaniu się z wynikami badań *Sibutramine Cardiovascular*

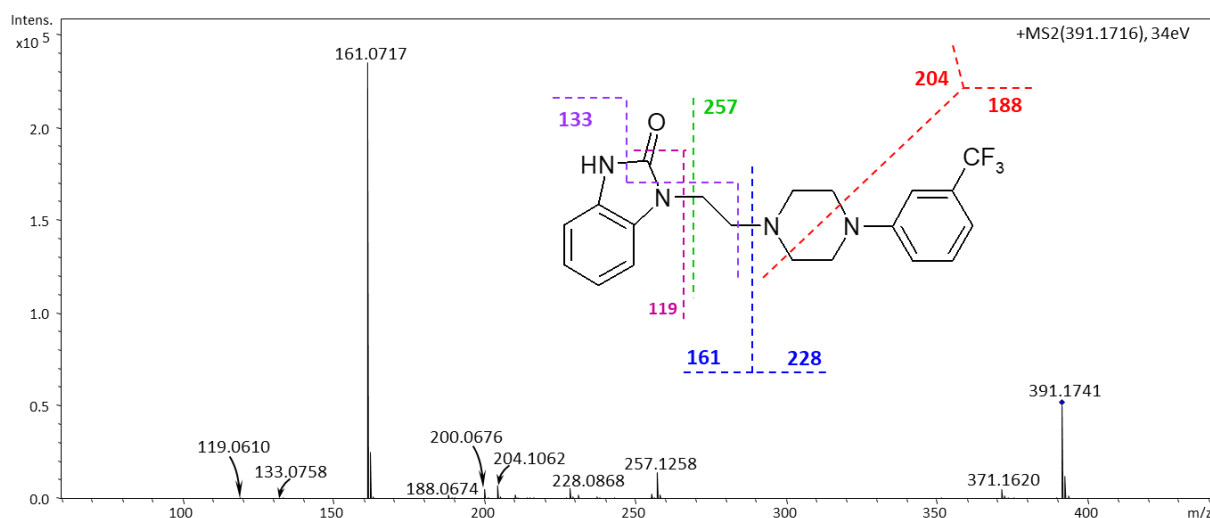
³⁴ S.D. Glick, R.E. Haskew, I.M. Maisonneuve, J.N. Carlson, T.P. Jerussi, Enantioselective behavioral effects of sibutramine metabolites, *Eur. J. Pharmacol.* 397 (2000) 93-102

Outcome Trial (SCOUT), zaleciła zawieszenie pozwoleń na dopuszczenie do obrotu dla sybutraminy ze względu na zwiększone ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych³⁵. Wyniki badań opublikowanych w pracy **H1** pokazują prawdziwy problem dotyczący bezpieczeństwa podawania suplementów diety i produktów ziołowych niewiadomego pochodzenia, a zaproponowana w tym artykule strategia wykrywania i oznaczania sybutraminy i jej analogów jest bardzo przydatna w badaniu sfałszowanych produktów, niewiadomego pochodzenia. Precyzyjną identyfikację niedeklarowanych składników umożliwia przede wszystkim metoda LC-QTOF-MS/MS.

Podobnego problemu identyfikacji niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie w suplementach diety dotyczy praca **H3**. W kilku suplementach diety, deklarowanych jako czysto ziołowe, zakupionych w 2010 r. w oficjalnym łańcuchu dystrybucji lub skierowanych do badań w NIL przez policję, metodą LC-QTOF-MS/MS wykryłam nieznaną i nieidentyfikowaną do tej pory substancję o m/z 391,1741. Nawet ustalenie wzoru sumarycznego tej substancji było trudne, gdyż nie było propozycji z właściwym dopasowaniem profilu izotopowego i dopuszczalnym błędem pomiaru masy dla tego związku. Było to spowodowane tym, że standardowo tylko pierwiastki: C, H, N i O są brane pod uwagę przy propozycjach wzorów sumarycznych. Profil izotopowy nie wykazywał żadnych charakterystycznych cech, tak więc początkowo nieuzasadnione wydawało się rozpatrywanie obecności innych pierwiastków. Dopiero uwzględnienie ewentualnej obecności atomu fluoru, który nie posiada innych stabilnych izotopów, i to w liczbie minimum 3, umożliwiło przypisanie właściwego wzoru sumarycznego $C_{20}H_{22}F_3N_4O$. Widmo MS/MS jonu pseudomolekularnego $[M+H]^+$ ujawniło obecność następujących jonów fragmentacyjnych o podanych intensywnościach: m/z 161 (100 %), 257 (6 %), 204 (3 %), 228 (2 %), 371 (2 %), 200 (2 %) oraz jonów o niskiej intensywności poniżej 0,5 %: 119, 133, 188 (Ryc. 3). Po analizie jonów fragmentacyjnych i możliwych ścieżek fragmentacji zaproponowałam, że zidentyfikowanym związkiem jest 1-(2-{4-[3-(trifluorometylo)fenylo]piperazyn-1-yl}etylo)-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-on czyli flibanseryna. Było to o tyle trudne zadanie, gdyż w żadnych bazach widm nie było wówczas widm referencyjnych flibanseryny, a w literaturze naukowej również nie było jeszcze doniesień o metodach jej identyfikacji. Tożsamość wykrytej substancji potwierdzono dopiero po porównaniu otrzymanych wyników z widmem fragmentacyjnym i czasem retencji materiału odniesienia, który został zakupiony później w tym celu. W czasie, gdy zidentyfikowałam po raz pierwszy flibanserynę w suplemencie diety, była ona jeszcze w fazie badań klinicznych. W pierwszym okresie badań rozwojowych była ona rozpatrywana jako potencjalny lek przeciwdepresyjny ze względu na jej profil działania jako agonisty receptora serotonergicznego 5-HT_{1A} oraz antagonisty receptora 5-HT_{2A}. W trakcie badań przedklinicznych kobiety zgłaszały zwiększone libido, czego efektem była zmiana zastosowania tej substancji na leczenie hipolibidemii

³⁵ http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Sibutramine_107/WC500094238.pdf [dostęp 7.01.2019]

u kobiet w wieku przedmenopauzalnym (*hypoactive sexual desire disorder, HSDD*)³⁶. Po przeprowadzeniu badań klinicznych III fazy, ze względu na odnotowane działania niepożądane, takie jak: zawroty głowy, nudności, zmęczenie, senność i bezsenność, 18 czerwca 2010 r. Amerykańska Agencja Żywności i Leków (*Food and Drug Administration, FDA*) jednogłośnie opowiedziała się przeciwko zatwierdzeniu flibanseryny do stosowania w lecnictwie, a firma wydała oświadczenie o zaprzestaniu badań nad tym związkiem. Dopiero w sierpniu 2015 r., na skutek aktywnej kampanii podkreślającej dysproporcje w możliwościach leczenia dysfunkcji seksualnych u mężczyzn i u kobiet, FDA zatwierdziła flibanserynę do leczenia nabytych, uogólnionych zaburzeń pożądania u kobiet w okresie przedmenopauzalnym.



Rycina 3. Widmo ESI-QTOF-MS/MS flibanseryny [H3].

Jeszcze przed opublikowaniem wyników badań ukazała się praca³⁷, która raportowała identyfikację niedeklarowanej w suplemencie diety flibanseryny, w tym widmo LC-MS/MS, jednakże bez oznaczania zawartości flibanseryny. Dlatego też w kolejnym etapie badań została opracowana, zoptymalizowana i zwalidowana metoda HPLC z detekcją DAD, CAD i MS oznaczania zawartości niedeklarowanej flibanseryny w suplementach diety. W tej części badań dodatkowym utrudnieniem była obecność wielu składników aktywnych farmakologicznie w badanych suplementach. W suplementach tych, zidentyfikowałam metodą LC-QTOF-MS/MS oprócz flibanseryny inne niedeklarowane substancje pochodzenia naturalnego, takie jak: ikarynę, L-DOPA, magnoflorynę, menisperminę, ostol.

W suplementach diety zawierających flibanserynę stwierdzono również obecność związku o masie m/z 231,1108 i sugerowanym wzorze sumarycznym $C_{11}H_{14}F_3N_2$, którego widmo fragmentacyjne, w tym główny pik o m/z 188, było charakterystyczne dla

³⁶ S.M. Stahl, B. Sommer, K.A. Allers. Multifunctional pharmacology of flibanserin: possible mechanism of therapeutic action in hypoactive sexual desire disorder. *Journal of Sexual Medicine*. 8 (2011) 15–27

³⁷ M.Y. Low, L. Li, X. Ge, Ch.L. Kee, H.L. Koh, Isolation and structural elucidation of flibanserin as an adulterant in a health supplement used for female sexual performance enhancement, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 57 (2012) 104–108

trifluorometylofenylopiiperazyny (TFMPP). Identyfikacja tego związku została potwierdzona na podstawie porównania z materiałem odniesienia TFMPP. Jest to substancja psychoaktywna, która najczęściej stosowana w połączeniu z benzylopiiperazyną (BZP) naśladuje działanie metylenodioksymetamfetaminy (MDMA, *ecstasy*)³⁸. TFMPP jest substancją kontrolowaną w Polsce od 2011 r. na mocy ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii. Ze względu na niską intensywność sygnału dla tego związku w próbce oraz strukturę zbliżoną do flibanseryny, można przypuszczać, że jego obecność była najprawdopodobniej wynikiem rozkładu flibanseryny. Potwierdzenie tego przypuszczenia znaleziono w publikacji³⁹, która opisuje przypadek zatrucia po spożyciu około sześciu tabletek po 100 mg flibanseryny przez 2-letnie dziecko. W próbce jego moczu metodą GC-MS wykryto substancję TFMPP, która została określona jako aktywny metabolit flibanseryny⁴⁰.

W innym suplemencie diety, pochodzącym z legalnego łańcucha dystrybucji, a opisywanym również w publikacji **H3** zidentyfikowano niedeklarowany tadalafil, substancję aktywną farmakologicznie, występującą w produktach leczniczych dopuszczonych do obrotu na terenie RP, jednakże niedozwoloną do stosowania w suplementach diety. Były to **suplementy diety zafałszowane aktywnymi substancjami farmakologicznymi**.

Aby umożliwić wykonanie oznaczeń ilościowych, warunki opracowanej metody zostały zoptymalizowane tak, aby uzyskać jak najwyższą czułość i najlepszą rozdzielczość, w szczególności w obecności koeluującej ikaryny - naturalnego związku występującego często w suplementach polecanych przy zaburzeniach seksualnych. Walidacja opracowanej metody wykazała dobrą liniowość, dokładność i precyzję pomiarów zarejestrowanych przy pomocy detekcji DAD, CAD i MS. Dodatkowo, dla danych CAD, została przedstawiona i oceniona alternatywna metoda obliczeń wykorzystująca ujednoliconą funkcję kalibracji. Wyznaczono granicę wykrywalności i oznaczalności przy wykorzystaniu detektora MS, CAD i DAD dla flibanseryny. Chociaż czułość detektora CAD jest kilkukrotnie mniejsza od czułości detektora DAD i MS, to metoda z detekcją CAD umożliwia oznaczenie zawartości substancji może nie w ilościach śladowych, ale tych stosowanych w dawkach terapeutycznych. Jest to z pewnością sposób na przezwycięzenie problemu braku dostępności materiałów odniesienia analizowanych związków, szczególnie w przypadku nowych związków, których zakup jest często niemożliwy.

Obecność niedeklarowanych substancji farmakologicznie aktywnych stanowi również poważne wyzwanie dla laboratoriów zajmujących się wykrywaniem substancji dopingujących u sportowców. Zasadniczo analityczne metody wykrywania i jednoznacznej identyfikacji substancji dopingujących oparte są na technice spektrometrii mas.

³⁸ M.D. Arbo, M.L. Bastos, H.F. Carmo, Piperazine compounds as drugs of abuse, *Drug Alcohol Depend.* 122 (2012) 174-185

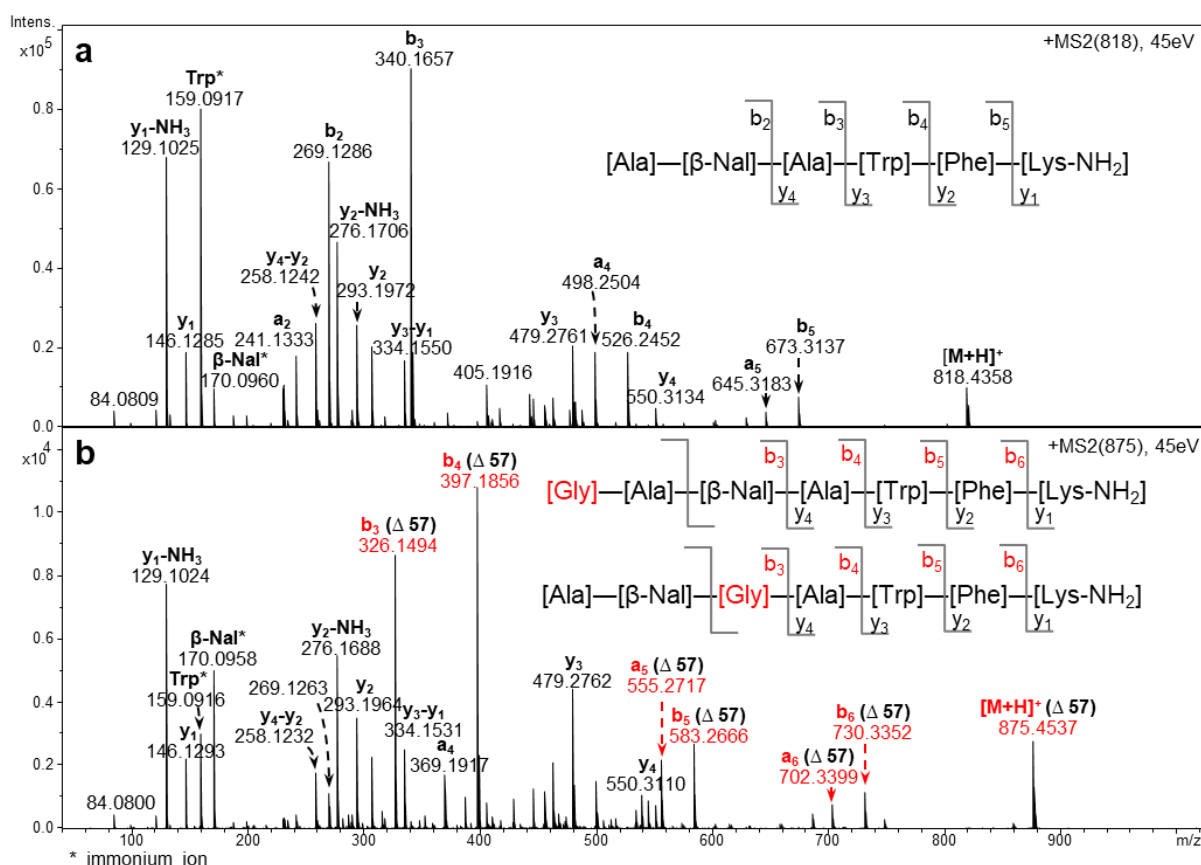
³⁹ N. Granzella, B.C. Chen, G.S. Baird, M. Valento, Flibanserin toxicity in a toddler following ingestion, *Journal Clinical Toxicology* 56 (2018) 226-228

⁴⁰ https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/022526Orig1s000PharmR.pdf
[dostęp 7.01.2019]

W dobie postępu w zakresie inżynierii genetycznej rozwija się nielegalny proceder rozprowadzania oraz fałszowania produktów peptydowych i białkowych. W dużej mierze problem ten dotyczy preparatów zawierających substancje zabronione do stosowania w sporcie przez Światową Agencję Antydopingową WADA. W pracy **H6** opisałam postępowanie w przypadku identyfikacji nowego i nieznanego związku o budowie peptydowej. Podobnie jak we wszystkich pracach składających się na cykl **H1 - H7**, próbka skierowana do badań wymagała wnikliwej analizy, gdyż w dostępnych bazach danych czy literaturze nie było żadnych widm referencyjnych, umożliwiających określenie, z jakim związkiem mamy do czynienia. Próbkę w formie liofilizatu, w nieoznakowanych fiolkach, została dostarczona do NIL przez Straż Graniczną, a metody analityczne zastosowane przez laboratorium celne pozwoliły jedynie stwierdzić, że substancja aktywna ma charakter peptydowy, oraz że substancją pomocniczą jest mannitol. Dzięki zastosowaniu ESI-QTOF-MS/MS zaobserwowano podwójnie naładowany jon $[M+2H]^{2+}$ przy m/z 438,238 oraz pojedynczo naładowany jon $[M+H]^+$ przy m/z 875,457. Zaproponowano wzór sumaryczny o najlepszym współczynniku dopasowania (najmniejszym błędzie pomiaru masy i najbardziej zbliżonym profilu izotopowym) dla jonu pseudomolekularnego $[M+H]^+$ $C_{47}H_{59}N_{10}O_7$. Ze względu na brak widm referencyjnych sam wzór sumaryczny nie umożliwił identyfikacji związku, należało wobec tego określić sekwencję aminokwasów. Przeprowadzono sekwencyjną procedurę *de novo* w celu fragmentacji cząsteczki i wygenerowano wzory sumaryczne dla jonów fragmentacyjnych. Zgodnie z oczekiwaniami dla dysocjacji wywołanej kolizją (CID), najliczniejsze jony fragmentów pochodziły z serii b przy m/z 326,149 (b_3), 397,187 (b_4), 583,227 (b_5) i z serii y przy m/z 479,276 (y_3) i 293,197 (y_2) (Ryc. 4). Zidentyfikowano również wiele innych jonów fragmentacyjnych, w tym jony serii a (a_4 , a_5 , a_6), które obserwowano wraz z jonami $[M+H-NH_3]^+$ reprezentującymi fragmenty z serii y, które utraciły amoniak (-17 Da). Zauważyłam duże podobieństwo w sekwencji aminokwasowej wykrytego peptydu z heksapeptydem GHRP-2. Widmo identyfikowanego peptydu wykazało częściową zgodność z widmem GHRP-2 (Ryc.4).

Jony obserwowane w widmie fragmentacyjnym MS/MS badanego związku (y_1 , y_2 , y_3 , y_4) były identyczne z jonami serii y, obserwowanymi w widmie MS/MS związku GHRP-2, co wskazywało na obecność następującej sekwencji aminokwasów: Ala-Trp-Phe-Lys-NH₂. Natomiast wartości m/z jonów b_3 , b_4 , b_5 , b_6 obserwowanych w widmie badanego związku, jak również jego jonu pseudomolekularnego, były wyższe o 57,02 Da w porównaniu z odpowiednimi jonami serii b i jonem pseudomolekularnym GHRP-2. Proponowany wzór sumaryczny identyfikowanej substancji różnił się, w porównaniu do GHRP-2 o C₂H₃NO, co odpowiada aminokwasowi - glicynie. W związku z tym stwierdziłam, że sekwencja aminokwasów w heksapeptydzie GHRP-2 została wydłużona o jeden dodatkowy aminokwas - glicynę. Wyjaśnienia wymagało jeszcze miejsce wstawienia glicyny w sekwencję GHRP-2, co było przedmiotem dalszych badań opisanych w pracy **H6**. Przeprowadzono acetylację

związku wg procedury dedykowanej peptydom⁴¹. Ten eksperyment wyraźnie wskazał, że glicyna została dodana do końca *N* (aminowego) sekwencji aminokwasowej związku GHRP-2.



Rycina 4. Porównanie widm fragmentacyjnych związku GHRP-2 (a) i identyfikowanego peptydu (b); kolorem czerwonym zaznaczono fragmenty różniące, dla których obserwowano zwiększenie m/z o 57.02 Da ($\Delta 57$) [H6].

W celu potwierdzenia zaproponowanej sekwencji badanego związku Gly-Ala-β-Nal-Ala-Trp-Phe-Lys-NH₂ i miejsca wstawienia glicyny, zarejestrowano widma MS/MS dla dwóch zsyntezowanych na zamówienie NIL wzorców referencyjnych zawierających glicynę w najbardziej prawdopodobnych położeniach w sekwencji, co potwierdziło trafność wcześniejszych przypuszczeń.

Peptydy uwalniające hormon wzrostu (GHRP) są krótkimi peptydami (poniżej 1 kDa), które posiadają zdolność stymulowania wydzielania ludzkiego hormonu wzrostu (hGH) poprzez wiązanie się z receptorem greliny⁴². W konsekwencji można zaobserwować różne efekty ich działania, w tym (najbardziej pożądane przez sportowców i kulturystów) właściwości poprawiające wydajność organizmu. Zgodnie z listą substancji niedozwolonych,

⁴¹ T.Y. Samgina, S.V. Kovalev, V.A. Gorshkov, K.A. Artemenko, N.B. Poljakov, A.T. Lebedev, *N*-terminal tagging strategy for de novo sequencing of short peptides by ESI-MS/MS and MALDI-MS/MS, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 21 (2010) 104-111

⁴² F.A. Momany, C.Y. Bowers, G.A. Reynolds, D. Chang, A. Hong, K. Newlander, Design, synthesis, and biological activity of peptides which release growth hormone in vitro. *Endocrinology* 108 (1981) 31-39

przygotowywaną i publikowaną corocznie przez WADA, GHRP są zawarte w sekcji S2 i są zabronione we wszystkich dyscyplinach sportowych. Poza GHRP-2 (*Pralmorelin*) stosowanym w Japonii jako środek diagnostyczny do badania niedoboru GH, różne inne związki z tej grupy są dostępne na tzw. "czarnym rynku". Sprzedawane są przez internet i nielegalnie wykorzystywane do zwiększania przyrostu mięśni. Nowe analogi znanych GHRP pojawiają się po to, aby obejść prawo i utrudnić wykrycie w badaniach antydopingowych. Nawet niewielka modyfikacja ich struktury czyni je z reguły niewykrywalnymi, ponieważ obecne strategie analityczne w laboratoriach kontrolnych opierają się głównie na analizie ukierunkowanej/celowanej. Dlatego też celem publikacji **H6** było nie tylko zaraportowanie wykrytego nowego analogu GHRP-2, heptapeptydu o masie cząsteczkowej 874,02 Da, ale i poinformowanie laboratoriów antydopingowych o nowym sposobie praktyk dopingowych.

Innym wartym rozważenia zagadnieniem było sprawdzenie, czy zidentyfikowany peptyd posiada zdolność uwalniania hormonu wzrostu (GH). Ferro i in.⁴³ opublikowali badania, w których testowano powinowactwo różnych przedstawicieli GHRP i ich potencjalnych metabolitów do receptora greliny. Na podstawie zaprezentowanych wyników można stwierdzić, że zidentyfikowany związek wykazuje kilka zasadniczych właściwości, które umożliwiają jego silne oddziaływanie z tym receptorem. W sekcji S2 listy związków zabronionych WADA, jest zawarte stwierdzenie, że podobieństwo struktury chemicznej do substancji zawartej w tej sekcji jest wystarczającym argumentem, aby zabronić jej stosowania przez sportowców, tak więc zidentyfikowany analog GHRP-2 może być uznany za środek dopingujący.

Wyniki tych badań obrazują nowe sposoby, zadaniem których jest skuteczne utrudnianie wykrywania środków dopingujących, pojawiających się na "czarnym rynku". Laboratoria kontrolne powinny pamiętać o możliwości przyłączania glicyny również do innych zabronionych peptydów. Ostatnio na stronach internetowych pojawiły się oferty sprzedaży produktów zawierających GHRP (na przykład ipamorelinę lub GHRP-6) z glicyną jako *N*-końcowym aminokwasem. Proceder ten potwierdza niedawno opublikowana po pracy **H6** publikacja⁴⁴.

Prace **H2**, **H4**, **H5** i **H7** dotyczą identyfikacji nowych narkotyków syntetycznych i powstały częściowo w wyniku realizacji projektu badawczego pt. *Identyfikacja i badania strukturalne nowych substancji psychoaktywnych w narkotykach syntetycznych ostatniej generacji metodami fizykochemii organicznej LC-MS, GC-MS i NMR* (OPUS V nr 2013/09/B/ST4/00106).

W pracy **H2** omówiono komplementarne metody analityczne badania nowych narkotyków syntetycznych (GC-MS, LC-MS, XRPD i NMR), które dostarczają szczegółowych

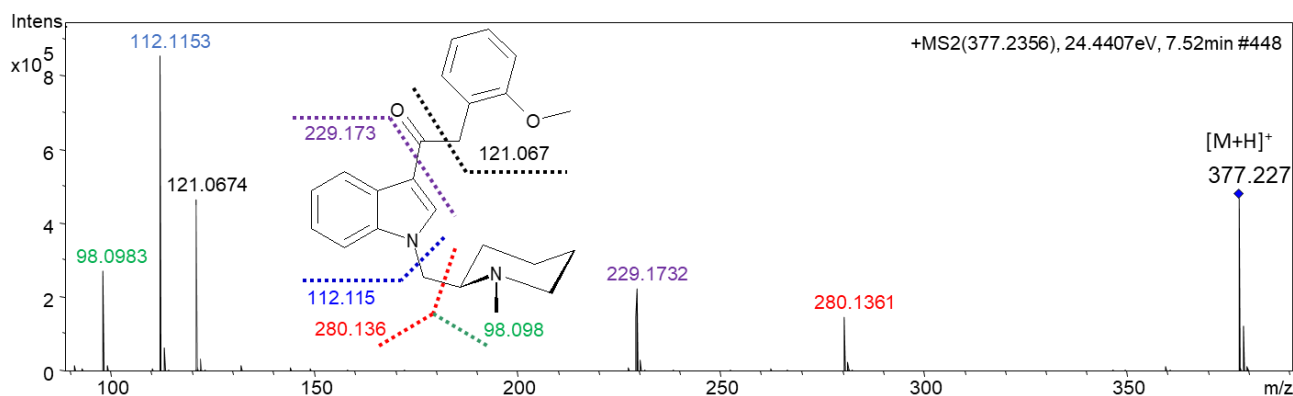
⁴³ P. Ferro, G. Krotov, I. Zvereva, G. Rodchenkov, J. Segura, Structure-activity relationship for peptidic growth hormone secretagogues. *Drug Test. Anal.* 9 (2017) 87-95

⁴⁴ P.M. Gajda, N.B. Holm, L.J. Hoej, B.S. Rasmussen, P.W. Dalsgaard, L.A. Reitzel, K. Linnet, Glycine-modified growth hormone secretagogues identified in seized doping material, *Drug Test Anal.* (2018) <https://doi.org/10.1002/dta.2489>

i uzupełniających się informacji o składzie analizowanych próbek i strukturach badanych związków. Metody te zastosowano w badaniu próbek, które po zamknięciu ok. 1400 sklepów z dopalaczami w październiku 2010 r. skierowano do pracowni, którą kierowałam. W pierwszym etapie, wykorzystując potencjał zoptymalizowanej metody LC-QTOF-MS/MS, wyznaczono wzory sumaryczne, a następnie, analizując ścieżki fragmentacji, zaproponowano wzory strukturalne związków chemicznych, w tym nowych substancji psychoaktywnych, wszystko to bez konieczności użycia materiałów odniesienia. W przypadku wątpliwości, np. gdy związki miały ten sam wzór sumaryczny oraz takie same jony fragmentacyjne, do badań stosowano spektrometrię jądrowego rezonansu magnetycznego, która umożliwiła pełną identyfikację psychoaktywnych związków. Pomocniczo, w badaniu składu próbek i aby sprawdzić obecność ewentualnych domieszek, stosowano proszkową dyfraktometrię rentgenowską.

W przebadanych w 2010 r. 3750 próbkach „dopalaczy” zidentyfikowaliśmy około 90 różnych związków farmakologicznie aktywnych, wśród nich 60 psychoaktywnych, w tym: pochodne katynonu, syntetyczne kannabinoidy, fenyloetyloaminy, piperazyny, tryptaminy oraz inne. Wśród aktywnych substancji farmaceutycznych wykrytych w dopalaczach (8,5 %) najczęściej pojawiały się związki miejscowo znieczulające, takie jak lidokaina, benzokaina czy prokaina, mające imitować znieczulające działanie kokainy przy aplikacji donosowej, ale również pojawiał się tadalafil czy kwas acetylosalicylowy. W 7,4 % próbek stwierdzono substancje kontrolowane wówczas ustawą o przeciwdziałaniu narkomanii, natomiast resztę stanowiły analogi strukturalne substancji kontrolowanych. Szczególnie niepokojąca była obserwacja, że tylko 17 % próbek zawierało jedną substancję psychoaktywną, natomiast pozostałe próbki były mieszaniną wielu substancji psychoaktywnych oraz licznych zanieczyszczeń, których interakcji nikt nigdy nie ocenił.

Wśród zidentyfikowanych substancji pojawiły się dwie zupełnie nowe substancje psychoaktywne, które zostały zgłoszone do Systemu Wczesnego Ostrzegania Europejskiego Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii. Były to syntetyczne kannabinoidy: WIN 48098 (*Pravadoline*) czyli (4-metoksyfenilo)-[2-metylo-1-(2-morfolin-4-yloetylo)indol-3-ilo]metanon oraz pochodna JWH-250 (CPE) czyli 2-(2-metoksyfenilo)-1-(1-[(1-metylopiperydylo-2-ylo)metylo]-1*H*-indol-3-ilo)etanon (Ryc. 5).



Rycina 5. Widmo ESI-QTOF-MS/MS pochodnej 2-metyleno-N-metylopiperydylowej JWH-250 (CPE).

Na podstawie dalszych badań składu jakościowego nowych narkotyków syntetycznych, które prowadzę wraz zespołem od dziesięciu lat, stwierdziłam, że największa liczba analizowanych próbek zawierała pochodne katynonu. W części wstępnej prac **H4** i **H7** przedstawiłam statystyczne zestawienie częstości występowania poszczególnych katynonów w kolejnych latach 2010-2014 (**H4**) oraz 2015-2017 (**H7**). Wśród ok. 200 zidentyfikowanych nowych substancji psychoaktywnych, 58 stanowiły pochodne katynonu, w tym 12 zostało zidentyfikowanych po raz pierwszy na terenie UE i zgłoszonych za pośrednictwem Systemu Wczesnego Ostrzegania do EMCDDA. Syntetyczne katynony są bardzo popularne na rynku narkotyków rekreacyjnych i stanowią w Europie (wg danych EMCDDA) drugą co do wielkości grupę substancji psychoaktywnych po syntetycznych kannabinoidach. Z ponad 670 NPS zgłoszonych do EMCDDA do końca 2017 r. aż 130 należało do grupy syntetycznych katynonów, z czego tylko jeden został zgłoszony w 2005 r. (metylon), siedem w 2013 r., trzydzieści jeden w 2014 r., dwadzieścia sześć w 2015 r., czternaście w 2016 r. i dwanaście w 2017 r.²⁹.

Spośród tych 12 nowych katynonów zidentyfikowanych po raz pierwszy w UE i zgłoszonych przez nasz zespół do EMCDDA, 10 zostało scharakteryzowanych spektroskopowo w publikacjach **H4** i **H7**. W pracy **H4** opisałam identyfikację metodą spektrometrii mas następujących czterech syntetycznych katynonów:

1. heksedron, 1-fenilo-2-(metyloamino)heksan-1-on
2. 4-BEC, 1-(4-bromofenilo)-2-(etylamino)propan-1-on
3. 4-Cl-PPP, 1-(4-chlorofenilo)-2-(pirolidyn-1-ylo)propan-1-on
4. 4-Br-PVP, 1-(4-bromofenilo)-2-(pirolidyn-1-ylo)pentan-1-on

Próbki dowodowe, zawierające m.in. te cztery związki były zabezpieczone przez policję i prokuraturę z nielegalnych miejsc wytwarzania na terenie Polski, zanim jeszcze trafiły do obrotu.

W pierwszym etapie badań zarejestrowano widma GC-EI-MS dla tych związków, jednak sygnały jonów molekularnych były nieobecne lub o bardzo niskiej intensywności i nie odpowiadały, w momencie identyfikacji, żadnym danym analitycznym dostępnym w literaturze czy bazach danych. Nawet jeśli widma GC-EI-MS były podobne do widm innych syntetycznych katynonów, to ich czasy retencji były znacząco różne.

Zgodnie ze wstępną klasyfikacją⁴⁵ nieznanych substancji psychoaktywnych na podstawie widma masowego GC-EI stwierdziłam, że identyfikowane związki są katynonami ze względu na obecność jonu iminowego oraz pików pochodzących od charakterystycznej pary jonów, oddległych od siebie o $\Delta m/z = 28$, powstałych na skutek eliminacji grupy karbonylowej (CO). Ponieważ wszystkie katynony posiadają wiązanie karbonylowe w pozycji β przy pierścieniu bocznym, tworzenie się jonów iminowych jest wynikiem procesu rozszczepiania wiązania

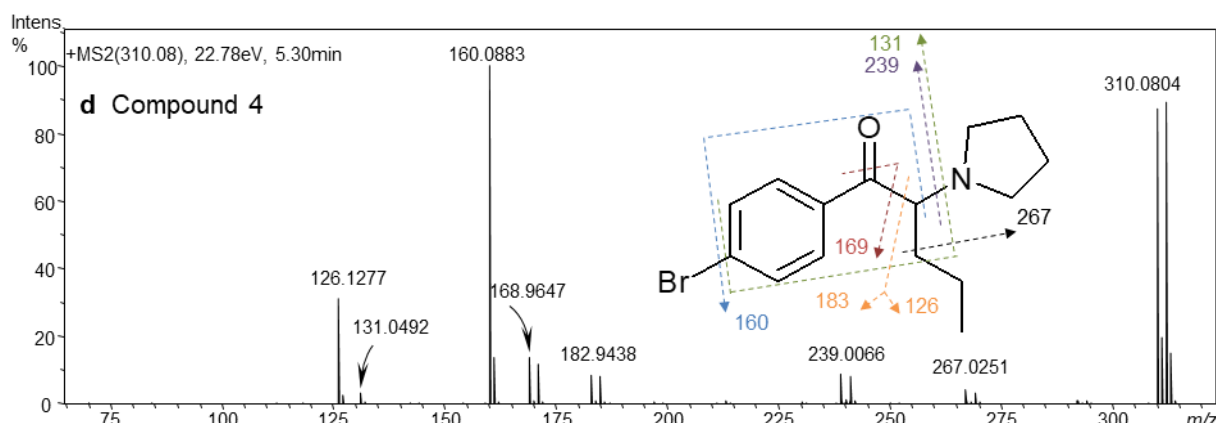
⁴⁵ D. Zuba, Identification of cathinones and other active components of "legal highs" by mass spectrometric methods, Trends Anal Chem 32 (2012) 15–30

C α -C β , prowadzącego do głównych jonów fragmentacyjnych dla większości katynonów⁴⁶. Z dalszych obserwacji jonów fragmentacyjnych wynikało, że związki nr 1 i 2 mogą być katynonami o prostym łańcuchu przy atomie azotu, gdyż w ich przypadku na widmie masowym obserwuje się pik podstawowy odpowiadający jonowi iminowemu C_nH_{2n+2}N⁺ ($n = 1, 2, \dots$) przy $m/z = 16 + 14n$ ⁴⁵, natomiast związki nr 3 i 4 mogą być katynonami z ugrupowaniem pirolidynowym, gdyż na widmie masowym obecny jest pik jonu głównego przy $m/z = 70 + 14n$, ($n = 1, 2, \dots$). Ponadto na widmach masowych EI-MS obserwowano dodatkowo inne charakterystyczne jony, np: dla katynonów niepodstawionych w pierścieniu aromatycznym (związek nr 1), takie jak $m/z = 77$ (C₆H₅) i $m/z = 105$ (C₇H₅O) dla jonu acylowego, a dla katynonów podstawionych w pierścieniu aromatycznym bromem (związki nr 2 i 4), takie jak $m/z = 155$ (C₆H₄Br) i $m/z = 183$ (C₇H₄BrO) lub chlorem (związek nr 3), takie jak $m/z = 111$ (C₆H₄Cl) i $m/z = 139$ (C₇H₄ClO).

W celu pełnej identyfikacji konieczne były dalsze badania analizowanych związków innymi metodami, przede wszystkim metodą LC-ESI-QTOF-MS/MS, która w przeciwieństwie do GC-EI-MS, dostarcza informacji o masie cząsteczkowej związku ze względu na „miękką” jonizację. Dokonałam wnikliwej analizy zarejestrowanych widm MS/MS i na podstawie dokładnego pomiaru masy, profilu izotopowego i analizy ścieżek fragmentacji MS/MS jednoznacznie określiłam wzory sumaryczne i najbardziej prawdopodobne struktury chemiczne nieznanymi cząsteczek.

Pochodne katynonu, w wyniku zderzenia jonów macierzystych [M+H]⁺ z cząsteczkami gazu obojętnego, po uwolnieniu cząsteczek wody, rozpadają się na skutek rozerwania wiązań C α -C β i tworzą się jony fragmentacyjne amin i innych reszt w zależności od pochodnej katynonu. Istotne jest, że eliminacja wody nie ma miejsca, gdy cząsteczka syntetycznego katynonu zawiera pierścień pirolidynowy. Na widmie LC-ESI-QTOF-MS związku nr 1 obserwowano pik przy m/z 206,1544, odpowiadający jonowi pseudomolekularnemu [M+H]⁺ C₁₃H₂₀NO (masa teoretyczna 206,1539, błąd pomiaru masy 2,2 ppm), natomiast na widmie fragmentacyjnym MS/MS przy energii kolizji 20,2 eV widoczny był intensywny pik przy m/z 188,1440, wskazujący na eliminację wody z cząsteczki sprotonowanej ([M+H-H₂O]⁺). Najbardziej intensywny pik przy m/z 132,0808 wskazywał na eliminację fragmentu C₄H₁₀O, czyli eliminację wody i oderwanie łańcucha butylowego. Na podstawie wszystkich jonów fragmentacyjnych zaproponowałam ścieżkę fragmentacji tego związku, co w efekcie pozwoliło na ustalenie najbardziej prawdopodobnej struktury tego związku o potocznej nazwie heksedron. Struktura związku została potwierdzona metodą NMR. W analogiczny sposób interpretowałam pozostałe związki, biorąc pod uwagę wszystkie informacje odczytane z widm masowych. Przykładowo, w przypadku związku nr 4 widoczne były piki przy m/z 310 i m/z 312 [M+2+H]⁺ o profilu izotopowym charakterystycznym dla atomu bromu obecnego w cząsteczce i zaproponowano wzór sumaryczny związku nr 4 jako C₁₅H₂₁BrNO (masa teoretyczna 310,0801, błąd pomiaru -1,1 ppm). Najbardziej intensywny jon fragmentacyjny przy m/z 160,0883 sugerował eliminację bromu z pierścienia fenyłowego i ugrupowania pirolidynowego. Przedstawiona na Rycinie 6 zaproponowana ścieżka

fragmentacji związku wraz ze scharakteryzowanymi jonami fragmentacyjnymi (Tabela 1), były podstawą do zidentyfikowania związku nr 4 jako Br-PVP.



Rycina 6. Widmo masowe LC-ESI-QTOF-MS/MS uzyskane dla związku nr 4 (4-Br-PVP) oraz zaproponowana fragmentacja [H4].

Tabela 1. Charakterystyka jonu macierzystego i jonów fragmentacyjnych dla związku nr 4 (4-Br-PVP).

Jon macierzysty* [M+H] ⁺ Jony potomne (m/z)	Intensywność [%]	Wzór sumaryczny	Wartość teoretyczna (m/z)	Błąd pomiaru masy		Konfiguracja elektronowa
				[mDa]	[ppm]	
310,0804*	87,2	C₁₅H₂₁BrNO	310,0801	-0,3	-1,1	parzysta
267,0251	4,2	C ₁₂ H ₁₄ BrNO	267,0253	0,2	0,7	nieparzysta
250,0229	0,5	C ₁₂ H ₁₃ BrN	250,0226	-0,3	-1,3	parzysta
239,0066	8,8	C ₁₁ H ₁₂ BrO	239,0066	0,0	0,1	parzysta
230,1539	0,5	C ₁₅ H ₂₀ NO	230,1539	0,0	0,0	parzysta
213,1514	1,1	C ₁₅ H ₁₉ N	213,1512	-0,2	-0,9	nieparzysta
211,0116	0,4	C ₁₀ H ₁₂ Br	211,0117	0,0	0,2	parzysta
196,9598	0,6	C ₈ H ₆ BrO	196,9597	-0,1	-0,7	parzysta
182,9438	8,6	C ₇ H ₄ BrO	182,9440	0,2	1,3	parzysta
168,9647	13,7	C ₇ H ₆ Br	168,9647	0,1	0,4	parzysta
160,0883	100,0	C ₁₁ H ₁₂ O	160,0883	-0,1	-0,4	nieparzysta
154,1228	0,5	C ₉ H ₁₆ NO	154,1226	-0,2	-1,4	parzysta
131,0492	3,2	C ₉ H ₇ O	131,0491	0,0	-0,3	parzysta
126,1277	31,2	C ₈ H ₁₆ N	126,1277	0,1	0,6	parzysta
84,0807	0,4	C ₅ H ₁₀ N	84,0808	0,4	5,1	parzysta
70,0655	0,4	C ₄ H ₈ N	70,0651	0,1	1,4	parzysta

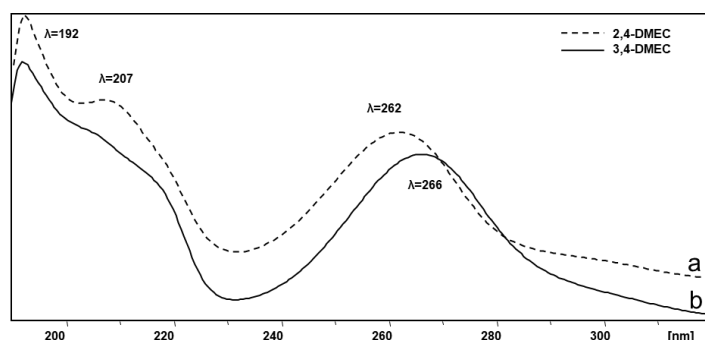
Ze względu na możliwość występowania wielu regioizomerów pochodnych katynonu, istotne jest rozróżnienie izomerów pozycyjnych łańcuchowych (określenie kształtu łańcucha alkilowego, jego ewentualnego rozgałęzienia) oraz miejsca podstawienia w pierścieniu aromatycznym. Metodą spektrometrii mas można próbować je odróżnić jedynie w oparciu o nieznaczne różnice w intensywnościach jonów fragmentacyjnych czy czasach retencji (warunkiem jest posiadanie materiałów odniesienia dla wszystkich izomerów). Pomocniczo można zastosować detekcję DAD. Przykładowo, na widmie DAD maksimum absorpcji (UV_{max}) dla związku nr 4 obserwowano przy długości fali 267 nm, co sugerowało miejsce podstawienia bromu w pozycji *para*, tak jak dla innych związków pochodnych 4-bromofenyłu. Jednakże celu jednoznacznej identyfikacji i potwierdzenia zaproponowanej struktury zastosowano metodę NMR.

W pracy **H7** opisałam identyfikację metodą spektrometrii mas kolejnych nowych syntetycznych katynonów i jednej izopochodnej:

1. *N*-propylokatynon, 1-fenyl-2-(propyloamino)propan-1-on;
2. 2,4-DMMC, 1-(2,4-dimetylofenyl)-2-(metyloamino)propan-1-on;
3. 2,4-DMEC, 1-(2,4-dimetylofenyl)-2-(etyloamino)propan-1-on;
4. 2,4-DMPPP, 1-(2,4-dimetylofenyl)-2-(pirolidyn-1-yl)propan-1-on;
5. 4-Br-PPP, 1-(4-bromofenyl)-2-(pirolidyn-1-yl)propan-1-on;
6. 5-BPDi, 1-(2,3-dihydro-1*H*-inden-5-yl)-2-(pirolidyn-1-yl)heksan-1-on;
7. 2,4-izo-DMC, 1-amino-1-(2,4-dimetylofenyl)-propan-2-on.

W toku badań GC-EI-MS, biorąc pod uwagę opisane wcześniej cechy, ustaliłam, że nieznanne związki również mogą być katynonami, przy czym związki 1-3 katynonami o łańcuchu prostym przy atomie azotu, natomiast związki nr 5-6 katynonami z ugrupowaniem pirolidynowym. Jedynie widmo masowe związku nr 7 nie wykazywało wszystkich cech charakterystycznych dla katynonów.

W analogiczny sposób jak opisany przy pracy **H4**, w oparciu o interpretację widm LC-ESI-QTOF-MS/MS dokonałam identyfikacji pozostałych nowych syntetycznych katynonów i jednej pochodnej katynonu (dimetyloizokatynonu), nieopisanych wówczas w literaturze i nieposiadających widm referencyjnych w dostępnych bazach. Następnie związki te zostały scharakteryzowane spektroskopowo (GC-EI-MS, LC-ESI-QTOF-MS/MS, DAD/UV_{max}, NMR) dla potrzeb ich identyfikacji w badaniach kryminalistycznych i toksykologicznych w innych laboratoriach. Interesujące z punktu widzenia rozróżniania izomerów było porównanie widm DAD i wyznaczonych długości fali przy maksimum absorpcji dla par 2,4-DMEC i 3,4-DMEC (Ryc. 7) oraz 2,4-DMMC i 3,4-DMMC, zarejestrowanych w zakresie 190 - 320 nm.



Rycina 7. Porównanie widm DAD i wyznaczonych UV_{max} dla 2,4-DMEC (a) i 3,4-DMEC (b) zarejestrowanych w zakresie 190 - 320 nm [H7].

Bardzo popularną grupą NPS są mieszanki ziołowe nasączone syntetycznymi kannabinoidami, przeznaczone do palenia. Mają one działanie zbliżone do (-)-*trans*- Δ^9 -tetrahydrokannabinolu (THC), składnika aktywnego konopi indyjskich i mogą wywoływać efekty halucynogenne, uspokajające i depresyjne. Niestety dane o ich sile działania, profilu bezpieczeństwa oraz stosowanych dawkach nie są dla większości substancji potwierdzone

farmakologicznie, a przypisywane im właściwości opierają się często jedynie na relacjach użytkowników na forach internetowych.

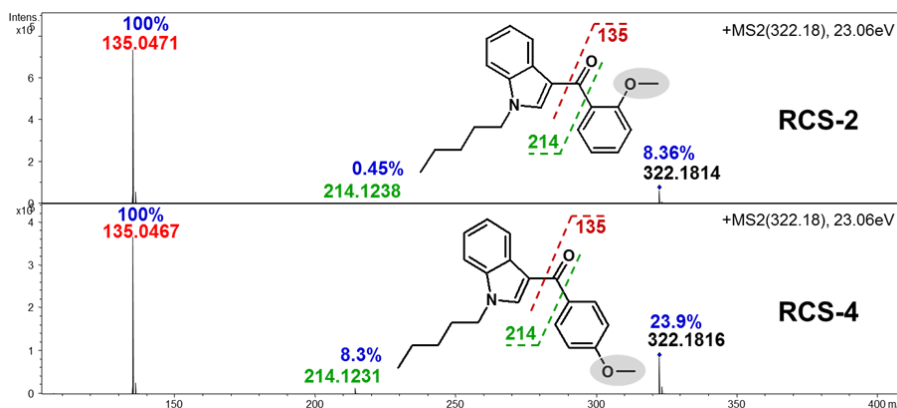
Z ponad 670 NPS zgłoszonych do EMCDDA do końca 2017 r. aż 179 należało do grupy syntetycznych kannabinoidów, przy czym tylko jeden został zgłoszony w 2008 r. (JWH-018), 29 w 2013 r., 30 w 2014 r., 25 w 2015 r., 11 w 2016 r. i 10 w 2017 r.²⁹.

Spośród około dwustu NPS stwierdzonych w próbkach badanych w naszej pracowni, jedną czwartą stanowiły syntetyczne kannabinoidy, z czego 5 zostało zidentyfikowanych po raz pierwszy w UE i zgłoszonych za pośrednictwem Systemu Wczesnego Ostrzegania do EMCDDA. Dwa wskazano w pracy **H2**, pozostałe są w trakcie publikowania lub zostały już po naszej identyfikacji opublikowane przez inne ośrodki badawcze. 26 kannabinoidów opisanych w publikacji **H5** zidentyfikowano metodą LC-QTOF-MS/MS, w większości przypadków bez posiadania odpowiednich materiałów odniesienia, potwierdzonych następnie metodą NMR. Wśród nich stwierdzono związki należące do różnych grup kannabinoidów, w tym pochodne: benzoilindolu (3), fenyloacetyloindolu (3), naftoilindolu (7), karboksylindolu (2), tetrametylcyklopropylokarbonyloindolu (3), indazolokarboksamid (6), indolokarboksamid (2). W początkowym okresie badań dużą popularnością cieszyły się pochodne 3-karbonyloindolu o akronimach pochodzących od inicjałów ich badaczy: seria JWH (John William Huffman) i AM (Alexandros Makriyannis). W ostatnich latach obserwuje się natomiast znaczny wzrost liczby nowych kannabinoidów - pochodnych indolu lub indazolu z ugrupowaniem amidowym czy estrowym. Ze względu na mnogość grup chemicznych i problemy z nazewnictwem kannabinoidów, EMCDDA zaproponowała podział struktury kannabinoidów na cztery podstawowe elementy: grupa podstawowa, czyli rdzeń (*Core*), łącznik (*Linker*), grupa przyłączona (*Linked Group*) i łańcuch boczny (*Tail*). EMCDDA zasugerowała również przyjęcie akronimów dla tych związków od skróconych nazw grup w kolejności: **LinkedGroup – TailCoreLinker**⁴⁶. Przykładem może być nazwa **MDMB-CHMICA** dla związku (w jęz. ang.): methyl 2-[[1-(cyclohexylmethyl)-1H-indol-3-yl]carboxamido]-3,3-dimethylbutanoate, gdzie: *Linked Group* – methyl 3,3-dimethylbutanoate ('**MDMB**'), *tail* – cyclohexylmethyl ('**CHM**'), *core* – indole ('**I**') i *linker* – carboxamide ('**CA**'). Podobny sposób określenia struktury kannabinoidów przyjęto w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 17 sierpnia 2018 r. w sprawie wykazu substancji psychotropowych, środków odurzających oraz nowych substancji psychoaktywnych (Dz. U. 2018 poz. 1591).

W trakcie analizy kannabinoidów metodą wysokorozdzielczej tandemowej spektrometrii mas napotkaliśmy pewne trudności związane z jednoznaczną identyfikacją niektórych z nich. Istotne znaczenie miał dokładny pomiar masy nie tylko jonu macierzystego, ale i jonów fragmentacyjnych, dzięki czemu mogły być z łatwością rozróżnione jony o podobnych masach, np. przy m/z 155,049 dla naftoilu ($C_{11}H_7O$) i przy m/z 155,086 dla etylonaftylu

⁴⁶ European Monitoring Centre for Drug and Drug Addiction (EMCDDA). Perspective on Drug-Synthetic cannabinoids in Europe, <http://www.emcdda.europa.eu/topics/pods/synthetic-cannabinoids> [dostęp 10.01.2019]

(C₁₂H₁₁). Jak wspomniano wcześniej, ograniczenia metody LC-QTOF-MS/MS wiążą się z trudnością rozróżniania m.in. miejsca podstawienia w pierścieniu aromatycznym. Jednakże podczas identyfikacji izomerów z podstawnikiem metoksyowym w pozycji *orto* (RCS-2) i *para* (RCS-4) okazało się to możliwe, gdyż w opracowanych warunkach analizy, czasy retencji obu izomerów różniły się, co umożliwiło ich rozdzielenie chromatograficzne. Ponadto, intensywność jonów fragmentacyjnych o tych samych wartościach *m/z* była różna (Ryc. 8). Przypuszczenia te okazały się słuszne, a struktury tych związków zostały potwierdzone metodą NMR.



Rycina 8. Widma fragmentacyjne ESI-QTOF-MS/MS zarejestrowane w jonizacji dodatniej dla RCS-2 i RCS-4 [H5].

Przy tak nieustannie zmieniającym się rynku substancji psychoaktywnym nie jest możliwe, aby laboratorium dysponowało materiałami odniesienia dla wszystkich wykrytych związków. W tego typu analizach niezastąpionym narzędziem okazał się uniwersalny detektor wyładowań koronowych LC-CAD, rejestrujący sygnał praktycznie każdego nielotnego lub średnio lotnego związku w próbce, niezależnie od jego struktury chemicznej i właściwości. Dzięki temu możliwe jest precyzyjne i dokładne oznaczenie zawartości bez potrzeby stosowania materiałów odniesienia badanej substancji. W pracy H5 opisano zoptymalizowaną metodę LC-CAD oznaczania zawartości wielu syntetycznych kannabinoidów o różnej budowie, z zastosowaniem jedynie dwóch materiałów odniesienia (JWH-250 i JWH-081). Opracowana metoda została zwalidowana w oparciu o wytyczne ICH i zastosowana do oznaczenia zawartości substancji czynnych w wybranych próbkach „dopalaczy”. Błąd oznaczenia związany z pośrednim określaniem zawartości (względem uniwersalnych materiałów odniesienia) nie przekraczał 1,60 %, a oznaczone wartości porównano z wynikami uzyskanymi metodą NMR. Otrzymane wyniki wskazują, że mieszanki ziołowe były niehomogenne - zawartości substancji aktywnych w poszczególnych próbkach były znacząco różne. Ponadto w analizowanych produktach wykrywano mieszaniny syntetycznych kannabinoidów, co mogło potęgować ich wywierany efekt farmakologiczny i potencjalnie zwiększać ryzyko przedawkowania. Takim przykładem jest produkt o nazwie „Mocarz”, w którego składzie stwierdzono obecność wysokiego stężenia trzech syntetycznych kannabinoidów: JWH-203 (103 mg/g), JWH-081 (118 mg/g) i JWH-019 (114 mg/g). W kolejnych próbkach o nazwie „Mocarz” stwierdzaliśmy mieszaniny innych

syntetycznych kannabinoidów: UR-144, 5F-AKB48, 5-FUR-144 (badania zawartości nie były wykonywane dla wszystkich próbek). Natomiast doniesienia o fali zatruć po NPS (zgłoszonych zdarzeń i związanych z nimi interwencji medycznych) w lipcu 2015 r. (w momencie wejścia w życie znowelizowanej ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii) sugerowały, że w suszach ziołowych sprzedawanych pod nazwą „Mocarz” występował kannabinoid MDMB-CHMICA⁴⁷. Związek ten był przedmiotem procedury oceny ryzyka⁴⁸ zainicjowanej przez EMCDDA, a przedstawione Radzie Europejskiej raporty zawierające dane naukowe⁴⁹ przyczyniły się do tego, że Rada ta, w formie decyzji wykonawczej, zadecydowała o poddaniu tej substancji kontroli przewidzianej dla narkotyków. W efekcie tej decyzji państwa członkowskie zostały zobowiązane do umieszczenia substancji w odpowiednim wykazie substancji kontrolowanych, tak szybko, jak to możliwe.

3.4. Podsumowanie i wykorzystanie wyników badań

Przestępczość farmaceutyczna i narkotykowa to problem, z jakim zmagają się i będzie zmagać się współczesny świat. Wzrastająca skala tego zjawiska, dynamiczne zmiany jakim ulega rynek produktów sfałszowanych i nielegalnych oraz zagrożenia zdrowia i życia ludzi jakie niesie przyjmowanie takich produktów, implikują nagłą konieczność systematycznego monitorowania zarówno legalnego, jak i nielegalnego obrotu produktami leczniczymi, suplementami diety, produktami zawierającymi substancje dopingujące czy nowe narkotyki syntetyczne. Przedstawione w cyklu prace są jedynie fragmentem szerokich badań i głównymi efektami „analitycznych poszukiwań” ukierunkowanych na rozpoznanie niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie w tego typu produktach z zastosowaniem wysokorozdzielczej tandemowej spektrometrii mas.

Najważniejsze osiągnięcia uzyskane w cyklu publikacji stanowiących dorobek habilitacyjny i wnioski płynące z wykonanych badań:

- Zoptymalizowane metody analizy jakościowej techniką LC-QTOF-MS/MS umożliwiają w większości przypadków szybką i jednoznaczną identyfikację zarówno niedeklarowanych substancji aktywnych farmakologicznie, jak i nowych substancji nieujętych w bazach widm referencyjnych czy piśmiennictwie naukowym.
- Wykryto i zidentyfikowano niedeklarowane substancje aktywne farmakologicznie w suplementach diety i nielegalnych produktach stosowanych w celach odchudzających lub podnoszenia funkcji seksualnych. Wśród ujawnionych zafałszowań były m.in.: sybutramina, wycofana ze stosowania w lecznictwie ze względu na liczne działania

⁴⁷ P. Adamowicz, Fatal intoxication with synthetic cannabinoid MDMB-CHMICA, *Forensic Sci Int.* 261 (2016) e5-10

⁴⁸ K. Krajewski, Ocena ryzyka związanego z nowymi substancjami psychoaktywnymi w świetle procedur unijnych oraz ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii, *Alcoholism and Drug Addiction* 29 (2016) 49-59

⁴⁹ http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/4093/TDAK16002ENN_PDFWEB.pdf [dostęp 10.01.2019]

niepożądane i jej silnie działająca pochodna *N*-dezmetylosybutramina (**H1**), czy flibanseryna, która w czasie identyfikacji była dopiero w fazie badań klinicznych i nie była dopuszczona do stosowania w leczeniu (**H3**). W celu zaalarmowania odpowiednich służb i instytucji związanych z ochroną zdrowia publicznego oraz w ramach wymiany informacji naukowej, dane te zostały zaraportowane do Głównego Inspektora Sanitarnego i Głównego Inspektora Farmaceutycznego oraz międzynarodowej sieci OMCL (Państwowych Laboratoriów Kontroli Leków).

- Zidentyfikowano nową substancję dopingującą – modyfikację jednego z peptydów uwalniających hormon wzrostu (GHRP-2), zaprojektowaną (poprzez wydłużanie łańcucha aminokwasów w peptydach o kolejny aminokwas – glicynę) w celu obejścia prawa antydopingowego (**H6**). Dane te zostały opublikowane w czasopiśmie skierowanym przede wszystkim do laboratoriów antydopingowych, aby poinformować jak najszersze grono zainteresowanych ekspertów o nowych praktykach stosowanych w dopingu.
- Wykryto i określono struktury wielu nowych narkotyków syntetycznych (**H2, H4, H5, H7**), w tym po raz pierwszy na terenie Unii Europejskiej, nowe substancje psychoaktywne z grupy syntetycznych katynonów (**H4, H7**) i kannabinoidów (**H2**). Dane te zostały zaraportowane poprzez Krajowe Biuro ds. Przeciwdziałania Narkomanii do Systemu Wczesnego Ostrzegania Europejskiego Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii w Lizbonie.
- Wykazano, że wysokorozdzielcza metoda tandemowej spektrometrii mas jest niezastąpionym i wiarygodnym narzędziem umożliwiającym wykrycie, potwierdzenie obecności i identyfikację niedeklarowanych związków aktywnych farmakologicznie. Niemniej jednak metody badań w laboratoriach kontrolnych powinny być nieustannie aktualizowane i doskonalone.
- Zoptymalizowane metody mogą być implementowane w ośrodkach badawczych i kontrolnych zajmujących się analizą farmaceutyczną, antydopingową i kryminalistyczną, a uzyskane rezultaty są wskazówką dla odpowiednich służb i instytucji związanych z ochroną zdrowia publicznego, zmagających się z kontrolą zafałszowań leków, suplementów diety, dopingu czy nowych narkotyków syntetycznych.

IV. Plany badawcze

Część uzyskanych w badaniach eksperymentalnych wyników nie została jeszcze opublikowana, a jedynie zaprezentowana w postaci doniesień zjazdowych w trakcie konferencji międzynarodowych i krajowych. Dotyczy to przede wszystkim opracowanego schematu postępowania w identyfikacji możliwie wielu syntetycznych kannabinoidów metodą LC-QTOF-MS/MS (Ryc. 9), który, biorąc pod uwagę główne składowe struktury kannabinoidów, sugerowane przez EMCDDA, umożliwia rozróżniania syntetycznych kannabinoidów z różnych klas chemicznych. Dane te są trakcie publikowania, niemniej jednak, były one już prezentowane na zjazdach (**K37, K38, K41**) i zostały przyjęte z dużym zainteresowaniem, zwłaszcza wśród analityków laboratoriów kryminalistycznych, gdzie niewłaściwa identyfikacja substancji pociąga za sobą sankcje karne dla oskarżonych. W analogiczny sposób jest przygotowywany schemat postępowania w identyfikacji syntetycznych kannabinoidów metodą GC-El-MS, najbardziej popularną w laboratoriach kryminalistycznych.

Opracowano również i zaprezentowano na zjazdach (**K39, K42**) schemat postępowania w identyfikacji pochodnych fentanylu metodą LC-QTOF-MS/MS, opierając się na charakterystycznych elementach ich struktury i odpowiadających im jonach fragmentacyjnych. Jest to szczególnie istotne ze względu na fakt, iż syntetyczne opioidy stanowią aktualnie ogromne zagrożenie dla zdrowia publicznego i wyzwanie dla polityki narkotykowej na całym świecie oraz dla laboratoriów kontrolnych^{50,51}. Z 13 syntetycznych opioidów wykrytych w naszym laboratorium, aż osiem zostało zgłoszonych do Systemu Wczesnego Ostrzegania EMCDDA przez nas po raz pierwszy, a dane przydatne w ich identyfikacji posłużą innym ośrodkom badawczym.

Obecnie moja praca, wraz zespołem, którym kieruję, skupia się na identyfikacji substancji aktywnych farmakologicznie oraz ich metabolitów w próbkach biologicznych pobranych od pacjentów z podejrzeniem zatrucia substancjami psychoaktywnymi, hospitalizowanych w Klinice Toksykologii Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi. Badanie te są prowadzone w naszym laboratorium w związku z projektem naukowym **DOPMED - System Rejestracji i Identyfikacji Zatruc Nowymi Substancjami Psychoaktywnymi w Polsce jako kluczowe źródło szybkiego reagowania na niepożądane skutki ich używania**, realizowanym w ramach zadań określonych w Narodowym Programie Zdrowia na lata 2016-2020.

Celem tego projektu jest opracowanie koncepcji pilotażowego programu rejestracji i analizy zatruc nowymi substancjami psychoaktywnymi w Polsce, który zaimplementowany na terenie całego kraju, umożliwi oddziałom ostrych zatruc włączenie się w system rejestracji

⁵⁰ M. Wojnar Nowe opioidy dostępne na rynku w: Standardy postępowania wobec osób używających nowych substancji psychoaktywnych (NSP) Poradnik dla pracowników medycznych pod redakcją M. Wojnara, Warszawa (2018)

⁵¹ J.B. Zawilska, An Expanding World of Novel Psychoactive Substances: Opioids, Front. Psychiatry 8 (2017) 110

zatrucć NPS w Polsce. Informacje pozyskane w tym projekcie mogą przyczynić się do dostarczenia szybkiej i skutecznej pomocy medycznej pacjentom.

Jestem koordynatorem merytorycznym w NIL odpowiedzialnym za całość badań analitycznych, w tym także za opracowanie metodologii i procedur analitycznych przygotowania próbki i analizy jakościowej pod kątem obecności NPS i ich metabolitów w próbkach biologicznych pochodzących od hospitalizowanych pacjentów. Analiza NPS w próbkach biologicznych niewątpliwie wymaga zastosowania czułej metody analitycznej. W celu identyfikacji substancji aktywnych farmakologicznie i ich metabolitów stosowana jest przez nas metoda LC-QTOF-MS/MS. Jest to technika obecnie, obok LC-QQQ-MS/MS⁵², najczęściej wykorzystywana w analizie NPS w płynach biologicznych^{53,54}, umożliwiającą zarówno rozdział wielu składników w skomplikowanej matrycy, jak również ich identyfikację.

Z pewnością analiza metabolitów NPS w próbkach biologicznych jest dla analityków dużym wyzwaniem, z którym chciałabym się zmierzyć. Planuję również, wraz z zespołem, przeprowadzić badania metabolizmu NPS w warunkach *in vitro* na izolowanych hepatocytach, w których procesy biotransformacji zachodzą najintensywniej. Na podstawie tych badań chciałabym określić struktury możliwych metabolitów NPS, nieopisanych jeszcze literaturze, a wykrywanych w próbkach biologicznych (dotyczy to przede wszystkim nowych syntetycznych opioidów, które wykryliśmy w pierwszym etapie projektu DOPMED).

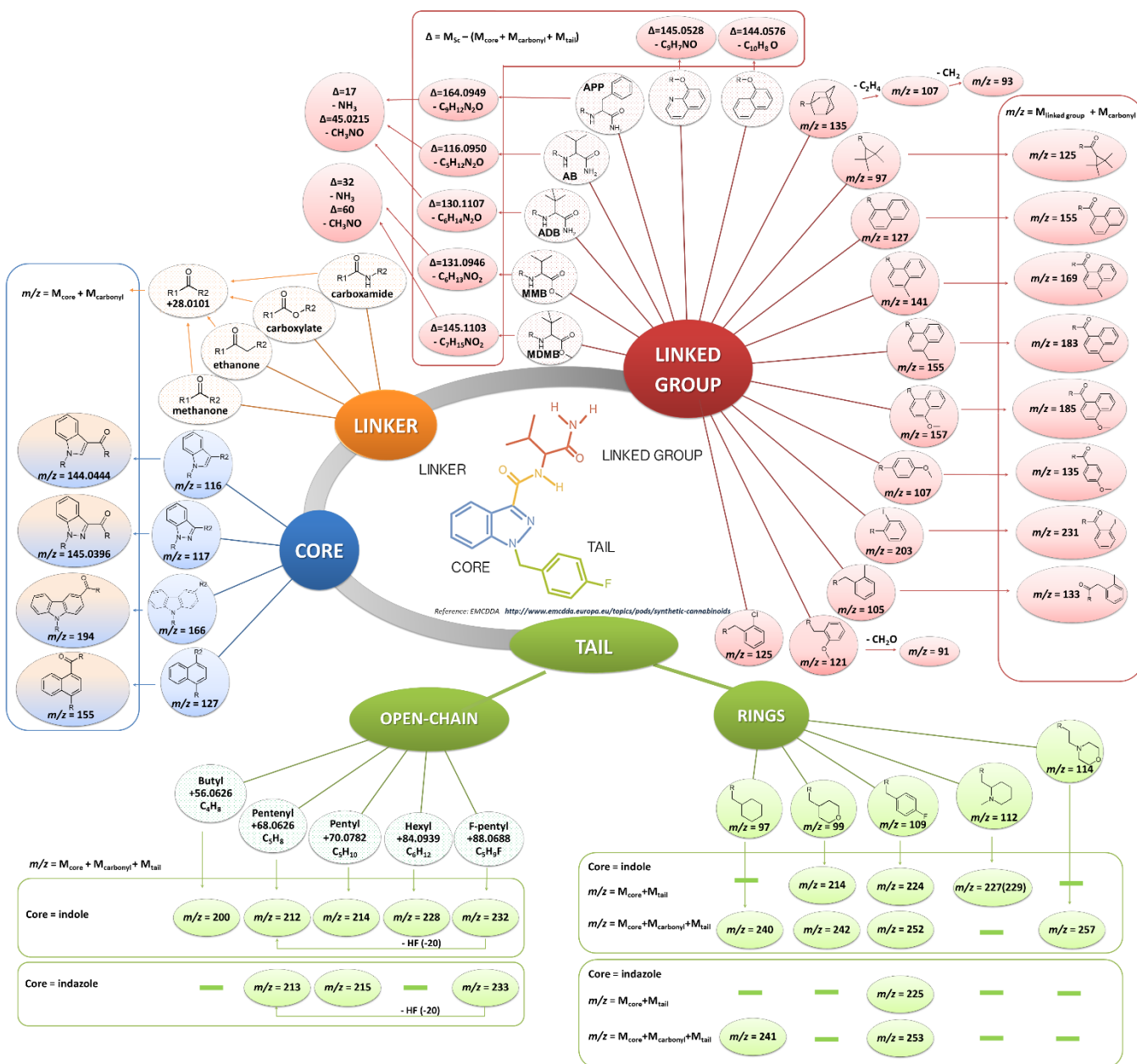
Nadal planuję badać próbki leków i produktów nielegalnych pod kątem ich potencjalnego zafałszowania, a wszelkie aktywności związane z upowszechnianiem uzyskanych wyników badań, zarówno te publikacyjne, jak i informacyjne, wierzę, że przyczynią się do poprawy zdrowia publicznego.

⁵² P. Adamowicz, B. Tokarczyk Simple and rapid screening procedure for 143 new psychoactive substances by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Test Analysis* 8 (2016) 652-67

⁵³ B. Prasad, A. Garg, H. Takwani, S. Singh, Metabolite identification by liquid chromatography-mass spectrometry, *Trends in Analytical Chemistry*, 30 (2011) 360-387

⁵⁴ M. Paul, S. Bleicher, S. Guber, J. Ippisch, A. Poletini, W. Schultis, Identification of phase I and II metabolites of the new designer drug α -pyrrolidinohexiophenone (α -PHP) in human urine by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS), *J. Mass Spectrom.* 50 (2015) 1305–1317

Scheme to distinguish main components of synthetic cannabinoid's structure by LC-QTOF



Fragments not seen in the MS/MS spectrum but identified by:

- the difference between the exact masses and formulas of molecular ion and the main fragmentation ion e.g. $\Delta = 145.0531$ (- $\text{C}_9\text{H}_6\text{NO}$);
- the addition of the exact mass e.g. +70.0782 to a core+carbonyl fragment ($144.0444 + 70.0782 = 214.1226$).

Rycina 9. Schemat postępowania w identyfikacji syntetycznych kannabinoidów z różnych grup chemicznych metodą LC-QTOF-MS/MS.

V. Wykaz innych (nie wchodzących w skład osiągnięcia wymienionego w pkt III) opublikowanych prac naukowych i osiągnięć naukowych

Opublikowane artykuły naukowe wymieniono w kolejności chronologicznej, a IF czasopism podano według danych z lat publikowania.

1. Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)

Prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych (oraz związane z pracą dokorską)

- A1.** Z. Fijałek, K. Sarna, A. Piwońska (**A. Błażewicz**)
Cyclic voltammetry and quartz crystal microbalance electrochemical studies on thiosalicylic acid and dithiodibenzoic acid.
Anal. Letters 33 (2000) 1293–1307 (IF=0,968)
- A2.** K. Buss, C. Drewke, S. Lohmann, **A. Piwońska (A. Błażewicz)**, E. Leistner
Properties and Interaction of Heterologously Expressed Glutamate Decarboxylase Isoenzymes GAD from Human Brain with Ginkgotoxin and Its 5-Phosphate.
J. Med. Chem. 44 (2001) 3166–3174 (IF=4,139)
- A3.** Z. Fijałek, E. Baczyński, **A. Piwońska (A. Błażewicz)**, M. Warowna-Grześkiewicz
Determination of local anaesthetics and their impurities in pharmaceutical preparations using HPLC method with amperometric detection.
J. Pharm. Biomed. Anal. 37 (2005) 913–918 (IF=1,889)
- A4.** **A. Błażewicz***, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, M. Boruta
Simultaneous determination of rocuronium and its eight impurities in pharmaceutical preparation using high-performance liquid chromatography with amperometric detection
J. Chromatogr. A 1149 (2007) 66–72 (IF=3,641)
- A5.** **A. Błażewicz***, Z. Fijałek, K. Samsel
Determination of pipecuronium bromide and its impurities in pharmaceutical preparation by high-performance liquid chromatography with coulometric electrode array detection.
J. Chromatogr. A 1201 (2008) 191–195 (IF=3,756)
- A6.** **A. Błażewicz***, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, J. Banasiuk
Application of high-performance liquid chromatography with amperometric and coulometric detection to the analysis of SZ1677, a new neuromuscular blocking agent, and its two derivatives.
J. Chromatogr. A 1204 (2008) 114–118 (IF=3,756)
- A7.** **A. Błażewicz***, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, M. Jadach
Determination of atracurium, cisatracurium and mivacurium with their impurities in pharmaceutical preparations by liquid chromatography with charged aerosol detection.
J. Chromatogr. A 1217 (2010) 1266–1272 (IF=4,194)

- A8.** A. Błażewicz*, Z. Fijałek, K. Sarna, M. Warowna-Grześkiewicz
Determination of pancuronium and its impurities in pharmaceutical preparation by liquid chromatography with charged aerosol detection.
Chromatographia 72 (2010) 183–186 (IF=1,075)

*Autor korespondencyjny

Prace opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

- A9.** K. Stypułkowska, A. Błażewicz*, Z. Fijałek, K. Sarna
Determination of Gentamicin Sulphate Composition and Related Substances in Pharmaceutical Preparations by LC with Charged Aerosol Detection
Chromatographia 72 (2010) 1225–1229 (IF=1,075)
- A10.** M. Jadach, A. Błażewicz, Z. Fijałek
Determination of local anaesthetics in illegal products using HPLC method with amperometric detection
Acta Polon. Pharm.-Drug Research 69 (2012) 397-403 (IF=0.665)
- A11.** K. Stypułkowska, A. Błażewicz, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, K. Srebrzyńska
Determination of neomycin and related substances in pharmaceutical preparations by reversed-phase high performance liquid chromatography with mass spectrometry and charged aerosol detection
J. Pharm. Biomed. Anal. 76 (2013) 207-214 (IF=2,829)
- A12.** M. Grembecka, P. Baran, A. Błażewicz, Z. Fijałek, P. Szefer
Simultaneous determination of aspartame, acesulfame K, saccharin, citric acid and sodium benzoate in various food products using HPLC–CAD–UV/DAD
Eur. Food Res. Technol 238 (2014) 357-365 (IF=1,559)
- A13.** M. Popławska, A. Błażewicz, K. Bukowińska, Z. Fijałek
Application of high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection for universal quantitation of undeclared phosphodiesterase-5 inhibitors in herbal dietary supplements
J. Pharm. Biomed. Anal. 84 (2013) 232-243 (IF=2,979)
- A14.** K. Stypułkowska, A. Błażewicz, A. Brudzikowska, M. Warowna-Grześkiewicz, K. Sarna, Z. Fijałek
Development of high performance liquid chromatography methods with charged aerosol detection for the determination of lincomycin, spectinomycin and its impurities in pharmaceutical products
J. Pharm. Biomed. Anal. 112 (2015) 8-14 (IF=3,169)
- A15.** M. Sałaga, A. Kowalczyk, M. Zielińska, A. Błażewicz, J. Fichna
Calea zacatechichi dichloromethane extract exhibits antidiarrheal and antinociceptive effects in mouse models mimicking irritable bowel syndrome
Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 388 (2015) 1069-1077 (IF=2,376)

*Autor korespondencyjny

2. Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR):

- B1.** E. Baczyński, **A. Piwońska (A. Błażewicz)**, Z. Fijałek
Determination of 2,6-dimethylaniline and o-toluidine impurities in preparation for local anesthesia by the HPLC method with amperometric detection.
Acta Polon. Pharm. 59 (2002) 333-339
- B2.** Z. Fijałek, K. Sarna, **A. Błażewicz**, J. Maurin
Sfałszowane inhibitory fosfodiesterazy typu 5 – narastające zagrożenie dla zdrowia publicznego
Roczniki PZH 61 (2010) 227–235
- B3.** Z. Fijałek, K. Sarna, **A. Błażewicz**, J. Maurin, P. Baran, K. Wacławek
Counterfeit medicinal products, medical devices and dietary supplements – growing safety risks for public health
Military Pharmacy and Medicine 4 (2011) 29-38
- B4.** A. Mazurek, P. Baran, **A. Błażewicz**, P. Januszewicz, K. Jop, J. Maurin
Produkty lecznicze i preparaty niewiadomego pochodzenia stosowane nielegalnie jako preparaty poronne
Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie 10 (2012) 238-244
- B5.** M. Popławska, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek
The development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry screening method for the identification of various designer drugs and other substances of abuse
Military Pharmacy and Medicine 6 (2013) 1-12
- B6.** K. Stypułkowska, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek
Analiza ilościowa antybiotyków aminoglikozydowych oraz ich zanieczyszczeń – wyzwania i nowe kierunki
Farmacja Polska 72 (2016) 260-268
- B7.** A. Kowalczyk, D. Świeczkowski, U. Religioni, A. Gawrońska-Błaszczuk, **A. Błażewicz**, M. Popławska, N. Pinto De Castro, U. Włodarczak, P. Merks
Rola laboratorium kontroli produktów leczniczych (OMCL) w procesie implementowania założeń unijnej Dyrektywy ds. leków sfałszowanych – rekomendacje kierunku działań polskich organizacji regulacyjnych
Farmacja Polska 72 (2016) 665-668
- B8.** **A. Błażewicz***, M. Popławska, M. Warowna-Grześkiewicz, K. Sarna, Z. Fijałek
Determination of Quaternary Ammonium Muscle Relaxants with Their Impurities in Pharmaceutical Preparations by LC-CAD (rozdział w monografii)
Charged Aerosol Detection for Liquid Chromatography and Related Separation Techniques, ed. Paul H. Gamache, John Wiley & Sons, Inc., (2017) 425-448.

*Autor korespondencyjny

3. Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach

1. Grant **promotorski** *Oznaczanie leków zwiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych metodami elektroanalitycznymi* N405 041 31/2875 (2006-2008) Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; **Główny wykonawca**;
2. Projekt badawczy *Klaster roślinnych produktów leczniczych. Rozwój współpracy dla zapewnienia bezpieczeństwa i najlepszej jakości leków roślinnych* (2011-2014) w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka Działanie POIG.05.01.00; Nr: WND-POIG.05.01.00-00-105/10; **Wykonawca**;
3. Projekt badawczy *Laura – antiseptic medicinal product for skin and wound*, w zakresie opracowania i walidacji metod analitycznych do oznaczania substancji aktywnej, konserwanta i zanieczyszczeń oraz badania stabilności (2014-2015) INNOMED/I/3/NCBR/2014 z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju; **Wykonawca (odpowiedzialny za opracowanie i walidację metod analitycznych oraz analizę próbek w trakcie badań stabilności)**;
4. Projekt badawczy *Identyfikacja i badania strukturalne nowych substancji psychoaktywnych w narkotykach syntetycznych ostatniej generacji metodami fizykochemii organicznej LC-MS, GC-MS i NMR* (2014-2018), OPUS V nr 2013/09/B/ST4/00106; z Narodowego Centrum Nauki (NCN): **Wykonawca (odpowiedzialny za całość analiz metodą LC-MS, GC-MS i LC-CAD)**;
5. Projekt naukowy *Dopalamy wiedzę. Pilotaż testowania substancji psychoaktywnych pozyskanych bezpośrednio od użytkowników tzw. "dopalaczy" w Polsce* (2017-2018) w ramach realizacji zadań Krajowego Programu Przeciwdziałania Narkomanii określonych w Narodowym Programie Zdrowia na lata 2016-2020, ze środków Funduszu Rozwiązywania Problemów Hazardowych, 3/2.5. pkt. 15. Wspieranie badań naukowych w obszarze problemu narkotyków i narkomanii; grant MZ KBPN 147/H3/BO/2018; **Wykonawca (odpowiedzialny za całość analiz metodą LC-MS)**;
6. Projekt naukowy *DOPMED - System Rejestracji i Identyfikacji Zatruc Nowymi Substancjami Psychoaktywnymi w Polsce jako kluczowe źródło szybkiego reagowania na niepożądane skutki ich używania* (2018-2019) w ramach realizacji zadań Krajowego Programu Przeciwdziałania Narkomanii określonych w Narodowym Programie Zdrowia na lata 2016-2020, ze środków Funduszu Rozwiązywania Problemów Hazardowych, 2.5. pkt. 15. Wspieranie badań naukowych w obszarze problemu narkotyków i narkomanii; grant MZ KBPN 326/W/H6/2018, **Koordynator merytoryczny w NIL odpowiedzialny za całość badań analitycznych w NIL**;
7. Projekt badawczy w ramach działalności statutowej NIL - *Zastosowanie spektrometrii mas, dyfraktometrii rentgenowskiej i magnetycznego rezonansu jądrowego do badania substandardowych, nielegalnych i sfałszowanych produktów leczniczych oraz suplementów diety* (2009 – nadal), **Wykonawca** od 2009 r, **Kierownik projektu** od 2015 r.

4. Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną

1. **I miejsce** w VI edycji konkursu na **najlepsze prace doktorskie** - prac naukowych dotyczących nowych odkryć i innowacji, mogących znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym Fundacji Hasco-Lek, **2012 r.**;
2. **Nagroda Naukowa Zespołowa I Stopnia** Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za cykl prac dotyczących leków miejscowo znieczulających, zwiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń, **2010 r.**;
3. **Nagroda Naukowa Zespołowa I Stopnia** Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za opracowanie nowej metody HPLC-CAD oznaczania substancji słodzących i dodatkowych oraz bromatologiczną i chemometryczną ocenę żywności na podstawie jej składu pierwiastkowego, **2015 r.**;
4. **Nagroda Naukowa III Stopnia** Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo pracy *Development of high performance liquid chromatography methods with charged aerosol detection for the determination of lincomycin, spectinomycin and its impurities in pharmaceutical products*, **2016 r.**;

W zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatów:

5. **I miejsce** w zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatu *Oznaczanie rokuronium i jego ośmiu zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych metodą HPLC z detekcją amperometryczną*, przedstawionego podczas I Konferencji: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa, **2006 r.**;
6. **II miejsce** w zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatu *Oznaczanie związków zwiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych techniką HPLC z detekcją wyładowań koronowych*, przedstawionego podczas III Konferencji: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa, **2008 r.**;
7. **I miejsce** w zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatu *Zastosowanie LC-MS i LC-CAD w badaniu sfałszowanych leków i suplementów diety*, przedstawionego podczas IV Konferencji: Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej, Warszawa, **2010 r.**;
8. **I miejsce** w zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatu *Zastosowanie LC-MS/MS z analizatorem czasu przelotu TOF do identyfikacji nowych substancji psychoaktywnych w tzw. dopalaczach*, przedstawionego podczas VI Konferencji: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa, **2011 r.**;
9. **III miejsce** w zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatu: *Zastosowanie LC-MS/MS-TOF w analizie antybiotyków ze źródeł legalnych i nielegalnych*, przedstawionego podczas IV Spotkania Użytkowników Systemów firmy Bruker w Polsce, Poznań; **2013 r.**;
10. **III miejsce** w zakresie prezentowanej zawartości merytorycznej plakatu: *Identification of novel fentanyl analogues in designer drugs by LC-ESI-QTOF-MS/MS*, przedstawionego podczas 6th Conference of Polish Mass Spectrometry Society, Warszawa, **2018 r.**;

5. Wygłoszenie referatów i komunikatów oraz przedstawienie plakatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych

Przedstawiłam 69 prac w formie doniesień ustnych i plakatowych na konferencjach ogólnopolskich i międzynarodowych. W tym czasie wygłosiłam **15** referatów lub komunikatów ustnych (część z nich na zaproszenie) i byłam współautorem 11 (podkreślono osoby referujące):

- R1. A. Błażewicz, Z. Fijałek, 18-19.10.2007, komunikat: *Zastosowanie HPLC z detekcją elektrochemiczną w analizie produktów leczniczych*, II Konferencja Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- R2. A. Błażewicz, Z. Fijałek, 29-30.05.2008, komunikat: *Zastosowanie HPLC z detekcją kulometryczną i koronową w analizie związków zwiotczających mięśnie*, VIII Konferencja: Elektroanaliza w teorii i praktyce, Kraków;
- R3. A. Błażewicz, 12-15.09.2010, referat: *Zastosowanie spektrometrii mas w rozwiązywaniu problemów analitycznych dotyczących jakości i bezpieczeństwa leków i suplementów diety*, XXI Naukowy Zjazd PTFarmu, Gdańsk;
- R4. A. Błażewicz, Z. Fijałek, 14-15.10.2010, referat: *Zastosowanie LC-MS i LC-CAD w badaniu sfałszowanych leków i suplementów diety*, V Konferencja Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- R5. A. Błażewicz, Z. Fijałek, 29-31.03.2011, referat: *Identification of psychoactive substances in designer drugs and herbal highs after closing down 1378 smart shops in Poland*, Symposium for OMCLs - Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines, EDQM, Strasbourg, Francja;
- R6. A. Błażewicz, Z. Fijałek, 29-31.03.2011, komunikat: *LC-MS/MS and LC-CAD for analysing dietary supplements*, Symposium for OMCLs - Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines, EDQM, Strasbourg, Francja;
- R7. A. Błażewicz, A. Mazurek, Z. Fijałek, 29.11-2.12.2011, referat: *Komplementarne metody badania nowych narkotyków syntetycznych, sfałszowanych leków i suplementów diety*, Konferencja: Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych, Zakopane;
- R8. A. Błażewicz, P. Baran, Z. Fijałek, 4-7.03.2012, referat: *Identification of psychoactive substances by LC-MS/MS-TOF after closing down 1378 smart shops in Poland*, Joint Conference of Polish Mass Spectrometry Society and German Mass Spectrometry Society, Poznań;
- R9. A. Błażewicz, M. Jadach, Z. Fijałek, 10.10.2012, referat: *Quantitative analysis of sildenafil derivatives and synthetic cannabinoids without reference standards by LC-CAD (Charged Aerosol Detection)*, Symposium der Fachgruppe Arzneimittelkontrolle/Pharmazeutische Analytik, Greifswald, Niemcy;
- R10. A. Błażewicz, M. Popławska, P. Baran, Z. Fijałek, 25-26.10.2012, referat: *Identyfikacja nowych narkotyków syntetycznych wprowadzonych nielegalnie do obrotu po 2010 roku*, VII Konferencja Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej, Warszawa;
- R11. A. Błażewicz, P. Baran, M. Popławska, Z. Fijałek, 20-23.11.2012 Komunikat: *Identyfikacja nowych narkotyków syntetycznych wprowadzonych nielegalnie do obrotu w 2012 roku*, II Ogólnopolska Konferencja Naukowa Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych, Serock;

- R12.** A. Błażewicz, P. Baran, M. Popławska, K. Stypułkowska, J. Maurin, A. Mazurek, K. Sarna, Z. Fijałek, 3-4.10.2013, referat: *Zastosowanie LC-MS/MS-TOF i XRPD w analizie kryminalistycznej*, IV Spotkanie Użytkowników Systemów firmy Bruker w Polsce, Poznań;
- R13.** A. Błażewicz, 9-11.09.2013, komunikat: *Narodowy Instytut Leków jako biegły instytucjonalny w analizie sfałszowanych leków, suplementów diety i nowych narkotyków syntetycznych*, Zjazd Katedr Kryminalistyki. Współczesna Kryminalistyka - wyzwania i zagrożenia, Szczytno;
- R14.** A. Błażewicz, 10-11.09.2014, referat: *Recent cases of new psychoactive substances from the Polish market – Identification by LC-MS/MS-TOF and NMR*, Symposium for OMCLs Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines EDQM, Strasbourg, Francja;
- R15.** A. Błażewicz, 28-29.03.2017, referat: *Synthetic opioids, benzodiazepines and other dangerous new psychoactive substances* Symposium for OMCLs: Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines EDQM, Nikozja, Cypr;

Współautor wygłaszanych referatów/komunikatów:

- R16.** A. Błażewicz, Z. Fijałek, J. Maurin, A. Mazurek, 24-26.06.2010, referat: *Leki sfałszowane – badanie za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej i spektrometrii mas*, 52 Konwersatorium Krystalograficzne, Wrocław;
- R17.** P. Baran, A. Błażewicz, J. Maurin, Z. Fijałek, 27-28.09.2011, komunikat: *The problem of identification of new psychoactive drugs – „designer drugs”*, III Spotkanie Użytkowników Systemów Firmy Bruker w Polsce, Poznań;
- R18.** M. Jadach, K. Bukowińska, A. Błażewicz, Z. Fijałek, 20-21.10.2011, komunikat: *Badanie sfałszowanych suplementów diety na dysfunkcje seksualne metodą LC-CAD*, VI Konferencja: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- R19.** J. Maurin, A. Błażewicz, P. Baran, A. Sołoducha, A. Mazurek, 5-7.07.2012, referat: *„Dopalacze”: Plaga XXI Wieku*, 54 Konwersatorium Krystalograficzne, Wrocław;
- R20.** M. Popławska, K. Kamiński, A. Błażewicz, Z. Fijałek, 20-23.11.2012, komunikat: *Oznaczanie syntetycznych kannabinoidów w „dopalaczach” metodą LC-CAD z uniwersalnym materiałem odniesienia*, II Ogólnopolska Konferencja Naukowa Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych, Serock;
- R21.** A. Mazurek, P. Baran, A. Błażewicz, J. Maurin, 20-23.11.2012, komunikat: *Badania produktów leczniczych i preparatów niewiadomego pochodzenia stosowanych nielegalnie jako preparaty poronne*, II Ogólnopolska Konferencja Naukowa Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych, Serock;
- R22.** K. Stypułkowska, A. Błażewicz, Z. Fijałek, 23-24.10.2014 komunikat: *Detektor wyładowań koronowych jako nowa alternatywa w oznaczaniu antybiotyków aminoglikozydowych*, VIII Konferencja: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- R23.** M. Popławska, A. Błażewicz, K. Stypułkowska, M. Kiljan, Z. Fijałek, E. Bednarek, J. Sitkowski, W. Bocian, L. Kozerski, 17-19.09.2015, referat: *Problemy w analizie środków zastępczych - Identyfikacja i oznaczanie syntetycznych kannabinoidów bez materiałów odniesienia*, Konferencja: Współczesna analityka farmaceutyczna i biomedyczna w ochronie zdrowia, Poznań;

- R24.** K. Stypułkowska, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 17-19.09.2015, komunikat: *Analiza ilościowa antybiotyków aminoglikozydowych oraz ich zanieczyszczeń z zastosowaniem detektora wyładowań koronowych*, Konferencja Współczesna analityka farmaceutyczna i biomedyczna w ochronie zdrowia, Poznań;
- R25.** A. Pokrywka, **A. Błażewicz**, K. Sarna, Z. Fijałek, 17-19.09.2015, referat: *Suplementacja i żywienie a doping*, XXXI Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Medycyny Sportowej Od profilaktyki do sukcesu sportowego, Zielona Góra;
- R26.** M. Popławska, **A. Błażewicz**, 19-20.10.2017, komunikat: *Badanie nieznanых substancji peptydowych nielegalnego pochodzenia*, Współczesna Analityka Farmaceutyczna i Biomedyczna w Ochronie Zdrowia, Poznań;

Komunikaty na konferencjach w formie plakatów

- K1.** Z. Fijałek, K. Sarna, **A. Piwońska (A. Błażewicz)**, 11-15.06.2000, plakat: *Cyclic voltammetry and quartz crystal microbalance electrochemical studies on thiosalicylic acid and dithiodibenzoic acid*, Electroanalysis, 8th International Conference European Society for ElectroAnalytical Chemistry (ESEAC), Bonn, Niemcy;
- K2.** E. Baczyński, **A. Piwońska (A. Błażewicz)**, Z. Fijałek, 26-27.09.2002, plakat: *Oznaczanie zanieczyszczeń 2,6-dimetyloaniliną i o-toluidyną oraz substancji czynnych w preparatach do znieczuleń miejscowych metodą HPLC z detekcją amperometryczną*, Sympozjum LEK - Problemy analityczne w ocenie czystości i farmakokinetyki leku, Kraków;
- K3.** K. Sołtyk, **A. Błażewicz**, U. Prządka, A. Łozak, Z. Fijałek, 8-9.05.2003, plakat: *Oznaczanie lantanowców w roślinach leczniczych metodą ICP-MS*, XII Poznańskie Konwersatorium Analityczne i Szkoła Naukowa „Analityka Śladów”, Poznań;
- K4.** Z. Fijałek, E. Baczyński, **A. Piwońska (A. Błażewicz)**, 2-6.5.2004, plakat: *Determination of local anaesthetics and their impurities in pharmaceutical preparations using HPLC method with amperometric detection*, PBA2004, 15th International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Florencja, Włochy;
- K5.** **A. Błażewicz**, M. Warowna-Grześkiewicz, Z. Fijałek, M. Boruta, 1-2.06.2006, plakat: *Oznaczanie związku zwiotczającego mięśnie - rokuronium i jego ośmiu zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych metodą woltamperometryczną i HPLC z detekcją amperometryczną*, VI Konferencja: Elektroanaliza w teorii i praktyce, Kraków;
- K6.** **A. Błażewicz**, M. Warowna-Grześkiewicz, Z. Fijałek, M. Boruta, 21-25.08.2006, plakat: *Determination of rocuronium and its eight impurities in pharmaceutical preparations by HPLC with amperometric detection*, ISC 06 The 26th International Symposium on Chromatography, Kopenhaga, Dania;
- K7.** **A. Błażewicz**, M. Warowna-Grześkiewicz, Z. Fijałek, 19-20.10.2006, plakat: *Oznaczanie rokuronium i jego ośmiu zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych metodą HPLC z detekcją amperometryczną*, I Konferencja: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K8.** **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, K. Sarna, 24-25.05.2007; plakat: *Oznaczanie związków zwiotczających mięśnie metodą HPLC z detekcją elektrochemiczną (amperometryczną i kulometryczną)*, VII Konferencja Elektroanaliza w teorii i praktyce, Kraków;

- K9.** **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, K. Sarna, M. Warowna-Grześkiewicz, 23-26.09.2007, plakat: *Determination of muscle relaxants and their impurities in pharmaceutical preparations by HPLC with electrochemical detections*, RDPA 2007, 12th International Meeting on Recent Developments In Pharmaceutical Analysis, Elba, Włochy;
- K10.** **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, K. Sarna, M. Warowna-Grześkiewicz, 30.01-1.02.2008, plakat: *Determination of pipecuronium bromide and its impurities in pharmaceutical preparations using HPLC with electrochemical detection*, HTC-10 Tenth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analysers, Brugia, Belgia;
- K11.** **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 18-19.09.2008, plakat: *Zastosowanie HPLC z detektorem CORONA CAD (Charged Aerosol Detector) w analizie związków zwiotczających mięśnie*, Ogólnopolskie Sympozjum Naukowe – Ocena jakości preparatów farmaceutycznych z uwzględnieniem metod badania w fazie stałej, Gdańsk;
- K12.** **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, 23-24.10.2008, plakat: *Oznaczanie związków zwiotczających mięśnie oraz ich zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych techniką HPLC z detekcją wyładowań koronowych*, III Konferencja: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K13.** K. Waclawek, Z. Fijałek, K. Sarna, **A. Błażewicz**, 23-24.10.2008, plakat: *Oznaczanie siarczanu gentamycyny oraz zanieczyszczeń w preparatach farmaceutycznych techniką HPLC z detekcją wyładowań koronowych*, III Konferencja: Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K14.** **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, K. Sarna, J. Maurin, K. Waclawek, P. Baran, 04-05.06.2009, plakat: *Zastosowanie HPLC z detekcją kulometryczną do analizy chlorowodorku sybutraminy i N-dezmetylsybutraminy w sfałszowanych suplementach diety*, IX Konferencja Elektroanaliza w teorii i praktyce, Kraków;
- K15.** K. Waclawek, Z. Fijałek, J. Maurin, K. Sarna, **A. Błażewicz**, 24–25.09.2009, plakat: *Zastosowanie metod instrumentalnych do badania nielegalnych i sfałszowanych chińskich suplementów diety o działaniu odchudzającym*, II Ogólnopolskie Sympozjum Nowoczesne techniki badawcze w ocenie jakości produktów leczniczych, Lublin;
- K16.** M. Jadach, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 13.05.2010, plakat: *Zastosowanie metody HPLC z detekcją amperometryczną do identyfikacji i oznaczania substancji miejscowo znieczulających w produktach nielegalnych*, VII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, ChemSession'10, Warszawa;
- K17.** M. Jadach, Z. Fijałek, **A. Błażewicz**, D. Błachut, 12-15.09.2010, plakat: *Badania substancji psychoaktywnych w produktach określanych jako „dopalacze”*, XXI Naukowy Zjazd PTFarmu, Gdańsk;
- K18.** K. Sarna, P. Baran, **A. Błażewicz**, K. Waclawek, Z. Fijałek, 12-15.09.2010, plakat: *Zastosowanie spektrometrii mas w badaniu nielegalnych produktów zawierających sterydowe hormony anaboliczne*, XXI Naukowy Zjazd PTFarmu, Gdańsk;
- K19.** K. Stypułkowska, **A. Błażewicz**, K. Sarna, Z. Fijałek 12-15.09.2010, plakat: *Oznaczanie neomycyny i jej zanieczyszczeń w produktach leczniczych metodą HPLC z detekcją wyładowań koronowych*, XXI Naukowy Zjazd PTFarmu, Gdańsk;
- K20.** M. Jadach, Z. Fijałek, M. Warowna-Grześkiewicz, **A. Błażewicz**, 12-15.09.2010, plakat: *Zastosowanie metody HPLC z detekcją amperometryczną do identyfikacji i oznaczania substancji miejscowo znieczulających w produktach nielegalnych*, XXI Naukowy Zjazd PTFarmu, Gdańsk;

- K21.** P. Baran, Z. Fijałek, J. Maurin, K. Sarna, A. Mazurek, **A. Błażewicz**, K. Wacławek, 24-26.03.2010, plakat: *The usefulness of LC-MS for control of counterfeit anabolic steroids*, II Conference of Polish Mass Spectrometry Society, Poznań;
- K22.** M. Jadach, Z. Fijałek, **A. Błażewicz**, 14-15.10.2010, plakat: *Zastosowanie LC-MS i LC-CAD do badania sfałszowanych suplementów diety*, V Konferencja Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K23.** M. Jadach, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 29-31.03.2011, plakat: *Application of LC MS/MS and LC-CAD in analysis of dietary supplements used in the treatment of sexual dysfunction*, Symposium for OMCLs Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines, EDQM, Strasbourg, Francja;
- K24.** P. Baran, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, K. Sarna, 29-31.03.2011, plakat: *The usefulness of LC-MS/MS for control of illegal anabolic steroids*, Symposium for OMCLs Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines, EDQM, Strasbourg, Francja;
- K25.** M. Jadach, Z. Fijałek, **A. Błażewicz**, 13.05.2011, plakat: *Zastosowanie HPLC-MS/MS do identyfikacji syntetycznych dodatków w ziołowych suplementach diety na potencję*, VIII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, ChemSession'11, UW Warszawa;
- K26.** D. Błachut, Z. Czarnocki, Z. Fijałek, **A. Błażewicz**, M. Jadach, 15-19.05.2011, plakat: *The gas chromatography-mass spectrometry analysis of new synthetic drugs – ring substituted benzylpiperazines*, 29th Informal Meeting on Mass Spectrometry, Fiera di Primiero, Włochy;
- K27.** M. Jadach, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 26-27.05.2011, plakat: *Lidokaina i benzokaina stosowane poza wskazaniami. Oznaczenie ilościowe związków miejscowo znieczulających w produktach nielegalnych i sfałszowanych metodą HPLC z detekcją amperometryczną*, X Konferencja Elektroanaliza w Teorii i Praktyce, Kraków;
- K28.** P. Baran, **A. Błażewicz**, J. Maurin, A. Mazurek, 30.06-02.07.2011, plakat: *Popularne leki używane jako leki wczesnoporonne. Zastosowanie dyfraktometrii proszkowej i spektrometrii mas w badaniach kryminalistycznych*, 53 Konwersatorium Krystalograficzne, Wrocław;
- K29.** P. Baran, **A. Błażewicz**, J. Maurin, A. Mazurek, Z.E. Fijałek, 20-21.10.2011, plakat: *Popularne leki używane jako środki wczesnoporonne. Zastosowanie spektrometrii mas i dyfraktometrii proszkowej w badaniach kryminalistycznych*, VI Konferencja Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K30.** **A. Błażewicz**, P. Baran, M. Jadach, K. Sarna, Z. Fijałek, 20-21.10.2011, plakat: *Zastosowanie LC-MS/MS z analizatorem czasu przelotu TOF do identyfikacji nowych substancji psychoaktywnych w tzw. dopalaczach*, VI Konferencja Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K31.** M. Grembecka, B. Kusiuk, W. Markuszewska, A. Kotłowska, P. Szefer, P. Baran, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 20-21.10.2011, plakat: *Ocena zawartości wybranych dodatków do żywności w produktach spożywczych z wykorzystaniem HPLC-UV/DAD-CAD oraz HPLC-MS*, VI Konferencja Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej, Warszawa;
- K32.** P. Baran, **A. Błażewicz**, A. Mazurek, K. Sarna, Z. Fijałek, 25-26.10.2012, plakat: *Zastosowanie LC-MS/MS z analizatorem czasu przelotu TOF do identyfikacji steroidów anabolicznych dostępnych w nielegalnym obrocie*, VII Konferencja Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej, Warszawa;

- K33.** M. Popławska, K. Kamiński, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 25-26.10.2012, plakat: *Zastosowanie detektora wyładowań koronowych (CAD) do opracowania metody oznaczania syntetycznych kannabinoidów z uniwersalnym materiałem odniesienia*, VII Konferencja Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej, Warszawa;
- K34.** K. Stypułkowska, **A. Błażewicz**, P. Baran, Z. Fijałek, 3-4.10.2013, plakat: *Zastosowanie LC-MS/MS-TOF w analizie antybiotyków ze źródeł legalnych i nielegalnych*, IV Spotkanie Użytkowników Systemów firmy Bruker w Polsce, Poznań;
- K35.** K. Stypułkowska, **A. Błażewicz**, K. Sarna, Z. Fijałek 10-11.09.2014, plakat: *Analysis of illegal veterinary products by LC-MS/MS-TOF and LC-CAD*, Symposium for OMCLs Combating Counterfeit and other Illegal Medicines EDQM, Strasbourg, Francja;
- K36.** **A. Błażewicz**, M. Warowna-Grześkiewicz, M. Popławska, Z. Fijałek, K. Sarna, M. Kiljan, D. Kwiatkowska-Różycka, 17-19.09.2015, plakat: *Identyfikacja substancji farmakologicznie aktywnych w wybranych sfałszowanych i nielegalnych produktach leczniczych oraz suplementach diety metodą tandemowej spektrometrii mas z analizatorem czasu przelotu*, Konferencja Współczesna analityka farmaceutyczna i biomedyczna w ochronie zdrowia, Poznań;
- K37.** **A. Błażewicz**, M. Popławska, P. Żółek, N. Olech, K. Stypułkowska, L. Kozerski, 28-29.03.2017, plakat *Synthetic cannabinoids: strategies to distinguish different chemical groups by LC-ESI-QTOF-MS/MS*; Symposium for OMCLs: Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines EDQM, Nikozja, Cypr;
- K38.** **A. Błażewicz**, M. Popławska, P. Żółek, N. Olech, K. Stypułkowska, L. Kozerski, 19-20.10.2017, plakat *Syntetyczne kannabinoidy - strategie rozróżniania grup chemicznych za pomocą tandemowej spektrometrii mas*, Współczesna Analityka Farmaceutyczna i Biomedyczna w Ochronie Zdrowia, Poznań;
- K39.** M. Popławska, P. Żółek, **A. Błażewicz**, L. Kozerski, 23-26.04.2018, plakat: *Identification of novel fentanyl analogues in designer drugs by LC-ESI-QTOF-MS/MS* 6th Conference of Polish Mass Spectrometry Society, Warszawa;
- K40.** E. Bednarek, J. Sitkowski, B. Naumczuk, W. Bocian, **A. Błażewicz**, M. Popławska, P. Żółek, L. Kozerski, 1-5.07.2018, plakat: *A complementary MS/NMR method of component analysis and structure elucidations of new generation of synthetic narcotics – designer drugs*, EUROMAR 2018 European Magnetic Resonance Meeting, Small Molecules and Pharmaceutical, Nantes, Francja;
- K41.** E. Bednarek, **A. Błażewicz**, J. Sitkowski, L. Kozerski, 19-24.08.2018, plakat: *Identification and structural characterization of novel synthetic cathinones*, EUCMOS 2018, XXXIV European Congress on Molecular Spectroscopy, Coimbra, Portugalia;
- K42.** **A. Błażewicz**, M. Popławska, P. Żółek, N. Olech, K. Stypułkowska, L. Kozerski, 20-23.11.2018, plakat *Identyfikacja syntetycznych kannabinoidów metodą LC-ESI-QTOF-MS/MS*, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa - Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych – nowoczesne technologie a opinia biegłego, Bronisławów;
- K43.** M. Popławska, P. Żółek, **A. Błażewicz**, L. Kozerski, 20-23.11.2018, plakat *Identyfikacja nowych analogów fentanylu metodą LC-ESI-QTOF-MS/MS*, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa - Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych – nowoczesne technologie a opinia biegłego, Bronisławów;

VI. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta

1. Uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych

1. *CLEN Project Group on Designer Drugs and Other Illicit Products Designer Drugs and other Illicit Products Project, CLEN2SAND Project (Scientific Activities on New Drugs) European Commission* - Bruksela.

Udział w charakterze eksperta, **reprezentującego całą sieć laboratoriów OMCL (nominacja z ramienia EDQM)** we współpracy z siecią europejskich laboratoriów celnych (*Customs Laboratories European Network* - CLEN) oraz Komisją Europejską w zakresie badania nowych substancji psychoaktywnych oraz produktów sfalszowanych i nielegalnych;

2. The Suspicious Unknown Products (SUP) project for OMCLs – projekt sieci laboratoriów OMCL w celu identyfikacji nieznanymi próbek zawierających substancje aktywne farmakologicznie i oznaczenia ich zawartości;
3. Market Surveillance Studies on Suspected Illegal Products (MSSIP) project for OMCLs – projekt sieci laboratoriów OMCL w celu badania próbek z różnych grup, zawierających substancje aktywne farmakologicznie;

2. Aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych

Przewodniczenie i prowadzenie sesji naukowych

1. I Ogólnopolska Konferencja Naukowa Konferencja - Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych", 29.11.2011-2.12.2011, Zakopane; **Przewodniczący sesji naukowej:** Badanie materiałów i urządzeń wybuchowych;
2. II Ogólnopolska Konferencja Naukowa - Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych" 20-23.11.2012, Serock; **Przewodniczący sesji naukowej:** Środki odurzające, substancje psychotropowe i prekursorzy;
3. Konferencja „Nowe Substancje psychoaktywne – wyzwania dla monitorowania, badań i polityki”, KBPN, 18-19.09.2017, Warszawa; **Przewodniczący sesji naukowej** na temat Analizy chemicznej nowych substancji psychoaktywnych;
4. Symposium for OMCLs: Combating Counterfeit and Other Illegal Medicines, 28-29.03.2017, Cypr, EDQM; **Przewodniczący sesji naukowej:** *Advanced Technologies for detecting falsified medicines.*
5. IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa - Fizykochemiczne badania śladów kryminalistycznych – nowoczesne technologie a opinia biegłego, 20-23.11.2018, Bronisławów; **Przewodniczący sesji naukowej V.**

Udział w debatach (na zaproszenie):

1. **A. Błażewicz**, 21.05.2018, Seminarium naukowe i debata: Dopalacze - co zyskujesz, czym ryzykujesz? GIS, UKSW, Warszawa;
2. **A. Błażewicz**, 25-27.06.2018, V Ogólnopolska Konferencja Narkotyki - Narkomania, Polityka, Nauka i Praktyka Uzależnienia - doświadczenia i przyszłość, KBPN, MZ, NPZ; Nowe substancje psychoaktywne - debata;

3. Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych
brak

4. Udział w konsorcjach i sieciach badawczych

1. Współpraca w ramach sieci europejskich Państwowych Laboratoriów Kontroli Leków (*Official Medicines Control Laboratories Network - OMCL Network*), agendy Rady Europy, w zakresie badania produktów nielegalnych i sfałszowanych oraz nowych substancji psychoaktywnych, członek.
2. Współpraca w ramach sieci europejskich Laboratoriów Celnych (*Customs Laboratories European Network - CLEN*), agendy Komisji Europejskiej, w zakresie badania produktów nielegalnych i sfałszowanych oraz nowych substancji psychoaktywnych; **nominacja z ramienia EDQM do reprezentowania całej sieci laboratoriów OMCL.**
3. Współpraca z Europejskim Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (EMCDDA) poprzez Krajowe Biuro do Spraw Przeciwdziałania Narkomanii (KBPN) w zakresie badania nowych substancji psychoaktywnych i zgłaszania w Systemie Wczesnego Ostrzegania.

5. Kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych oraz we współpracy z przedsiębiorcami, innymi niż wymienione w pkt V 3

brak

6. Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism

Brak

7. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

1. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, od 2015 r., członek **grupy do spraw produktów sfałszowanych**;
2. Powołana przez **Ministra Zdrowia** w 2012 r. na członka **Komisji ds. Produktów z Pogranicza** – organu opiniodawczo-doradczego Prezesa Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (URPL, WM i PB), komisji przygotowującej opinie w sprawach klasyfikacji produktu jako produktu leczniczego (w zakresie produktów spełniających jednocześnie kryteria produktu leczniczego oraz kryteria innego rodzaju produktu);

3. Grupa robocza dotycząca produktów sfałszowanych i nielegalnych w sieci OMCL (**Anti-Counterfeit/Illegal Medicines Working Group**) przy Europejskim Dyrektoriacie do spraw Jakości Leków i Ochrony Zdrowia (EDQM) w Strasburgu; od 2014 r., członek; (udział w przedsięwzięciach związanych z problematyką zwalczania obrotu nielegalnymi i sfałszowanymi produktami leczniczymi);
4. Grupa doradcza ds. produktów leczniczych dopuszczonych do obrotu procedurą centralną (**Advisory Group for the Centrally Authorised Products (CAP) Advisory Group**) w OMCL Network, EDQM, Strasbourg, (kadencja 2014-2016), członek;
5. Grupa robocza dotycząca nowych substancji psychoaktywnych i produktów nielegalnych oraz grupa robocza dotycząca wysokorozdzielczej spektrometrii mas (**Designer Drugs and other Illicit Products, Working Group Data sharing, Working Group High Resolution Mass Spectrometry**) European Commission – Bruksela, od 2016 r., ekspert;
6. Zespół do Spraw Fałszowania i Nielegalnego Obrotu Produktami Leczniczymi oraz Innymi Sfałszowanymi Produktami Spełniającymi Kryteria Produktu Leczniczego przy **Głównym Inspektorze Farmaceutycznym**, od 2015 r., ekspert;
7. Powołana w 2018 r. przez **Ministra Zdrowia** na członka **Zespołu do spraw oceny ryzyka zagrożeń dla zdrowia lub życia ludzi związanych z używaniem nowych substancji psychoaktywnych** (na podstawie art. 18a ust. 1 ustawy z dnia 29 lipca 2005 r. o przeciwdziałaniu narkomanii (Dz. U. z 2018 r. poz. 1030 z późn. zm.); wcześniej od 2013 r. ekspert w Roboczym Zespole ds. Nowych Substancji Psychoaktywnych przy Głównym Inspektorze Sanitarnym (GIS).

8. Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki

Kształcenie studentów

1. Kształcenie studentów Wydziału Farmaceutycznego WUM (2011-2015), cykl wykładów i ćwiczeń z analizy instrumentalnej w zakresie metody HPLC z detekcją spektrometrii mas (LC-MS/MS);
2. Kształcenie studentów Wydziału Farmaceutycznego WUM (2011-2015), cykl wykładów i ćwiczeń z analizy instrumentalnej w zakresie metody HPLC z detekcją wyładowań koronowych (LC-CAD);
3. Kształcenie studentów Wydziału Farmaceutycznego WUM (2011-2015), cykl wykładów i ćwiczeń z analizy instrumentalnej w zakresie metody HPLC z detekcją elektrochemiczną (LC-ED);
4. Prowadzenie praktyk wakacyjnych (co roku) dla studentów kierunków: farmacji, chemii, biotechnologii w ramach współpracy z wydziałami Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Politechniki Warszawskiej, Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz studentów zagranicznych przebywających na wymianie międzynarodowej w zakresie metod LC-MS/MS, LC-CAD, LC-ED.

Szkolenia dla Organów Ścigania i Wymiaru Sprawiedliwości (Policji, Prokuratury) innych podmiotów publicznych (m. in. Służby Więziennej)

1. Szkolenie dla **Prokuratorów** – Konferencja Szkoleniowa „Rola biegłego w sprawach nielegalnych i sfałszowanych produktów medycznych na przykładzie działalności Narodowego Instytutu Leków”, wykład szkoleniowy: *Zastosowanie techniki spektrometrii mas (MS) w badaniu sfałszowanych leków, suplementów diety oraz w rozwiązywaniu problemów kryminalistycznych*, organizator NIL, Warszawa, 3.09 i 10.09.2010 r.;
2. Szkolenie na zaproszenie skierowane do ponad **300 nauczycieli, pedagogów, psychologów szkolnych, kuratorów sądowych i dyrektorów szkół**: Narkotyki, dopalacze - profilaktyka i rozpoznawanie, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Koninie, organizator Wydział Prewencji Komendy Miejskiej Policji w Koninie; Wykład szkoleniowy *"Dopalacze i ich skład"*, Konin, 5.11.2013 r.;
3. Szkolenie na zaproszenie Centralnego Zarządu **Służby Więziennej** w Warszawie; Wykład szkoleniowy *"Leki jako potencjał dla zachowań właściwych odurzeniu (produkty lecznicze dostępne w sprzedaży OTC oraz na receptę, które mogą być wykorzystywane w celach odurzania się)"*, Popowo, 15.12.2015 r.;

Szkolenia międzynarodowe

1. Szkolenie dla przedstawicieli z 13 OMCLs (*Official Medicines Control Laboratories*) **"First Technical Anti-Counterfeit/Illegal Medicines Testing Training"**; Wykład szkoleniowy *Identification of counterfeits by LC-MS/MS-TOF and quantification by LC-CAD* prowadzenie ćwiczeń LC-MS/MS dla 5 grup uczestników, NIL Warszawa, 4-5.10.2012 r.;
2. Szkolenie dla przedstawicieli Mołdawii i Ukrainy EUBAM (European Union Border Assistance Mission to the Republic of Moldova and Ukraine) **"The working visit for the Ukrainian and Moldovan forensic experts"** w zakresie identyfikacji nowych substancji psychoaktywnych i leków sfałszowanych; Wykłady szkoleniowe i prowadzenie ćwiczeń: 1) *Identification of counterfeits by LC-MS/MS-TOF*, 2) *Quantitative analysis of sildenafil derivatives and synthetic cannabinoids without reference standards by LC-CAD (Charged Aerosol Detection)*, NIL Warszawa, 17-21.06.2013 r.;

Wygłoszone referaty w celu popularyzacji nauki (część na zaproszenie)

- N1. **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, M. Jadach, 19-21.10.2010, referat: *LC-MS/MS and LC-CAD for analyzing counterfeit medicines and dietary supplements*, CEER **Anti-Counterfeiting Conference** – Bucharest, Rumunia;
- N2. Min. A. Fronczak, **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 29.06.2011, referat: *The approach adopted by Poland for detection and evaluation of new psychoactive substances; Legal Highs, Designer Drugs (DDs)*, NEW PSYCHOACTIVE SUBSTANCES, EPP GROUP HEARING, **Parlament Europejski**, Bruksela, Belgia;
- N3. **A. Błażewicz**, Z. Fijałek, 4.10.2011, referat: *Composition of new psychoactive substances; The approach adopted by Poland for detection and evaluation of new psychoactive substances* Meeting of the Horizontal Working Party on Drugs HDG, **Rada Unii Europejskiej**, Posiedzenie Horyzontalnej Grupy ds Narkotyków w ramach Polskiej Prezydencji, Bruksela, Belgia;

- N4. A. Błażewicz, 6-7.10.2011, referat: *Counterfeit herbal products containing synthetic pharmacologically active substances*, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) Informal Meeting, **Europejska Agencja Leków** (European Medicines Agency EMA), **Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych** (URPLW MiPB), Warszawa;
- N5. A. Błażewicz, 28.03.2012, referat: *Identyfikacja substancji psychoaktywnych w "dopalaczach" metodą spektrometrii mas*, Konferencja "Doping. Dopalacze. Detoks" na XIV Międzynarodowych Targach Analityki i Technik Pomiarowych **EuroLab** 2012, Warszawa
- N6. A. Błażewicz, 4.12.2012, referat: *Dopalacze w 2012 roku - wyniki analiz NIL „Monitoring na poziomie krajowym, regionalnym i lokalnym – wyzwania i osiągnięcia*, Centrum Informacji o Narkotykach i Narkomanii **Krajowego Biura do Spraw Przeciwdziałania Narkomanii (KBPN)**, Mazowieckie Centrum Polityki Społecznej (MCPS), Warszawa;
- N7. A. Błażewicz, Z. Fijałek, 10-12.04.2013, referat: *Leki sfalszowane w państwach Unii Europejskiej – mity czy rzeczywistość?* XV Międzynarodowe Targi Analityki i Technik Pomiarowych i II Targi Techniki Kryminalistycznej „Chemik na tropie fałszerstw: leki, dopalacze i narkotyki”, Warszawa;
- N8. A. Błażewicz, 4-5.09.2013 referat: *Identification of new psychoactive substances in National Medicines Institute (Poland)*, Reitox Academy on New Psychoactive Substances **Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (EMCDDA)**, **KBPN**, Warszawa;
- N9. A. Błażewicz, 21-23.10.2013, Komunikat: *Skład dopalaczy: wyniki analiz NIL (2008-2013)*, Ogólnopolska Konferencja na temat Przeciwdziałania Narkomanii, **KBPN**, Konstancin-Jeziorna;
- N10. A. Błażewicz, 12-13.12.2013, Komunikat: *Dopalacze w 2013 r - wyniki analiz NIL*, IX Spotkanie programów redukcji szkód, **KBPN**, Warszawa;
- N11. A. Błażewicz, 24.09.2014, referat: *Identyfikacja nowych substancji psychoaktywnych (2012-2014)*, Konferencja Bezpieczeństwo w ruchu drogowym w aspekcie badania środków podobnie działających do alkoholu, **Laboratorium Kryminalistyczne Policji** Radom;
- N12. A. Błażewicz, 2-3.10.2014, referat: *Identyfikacja nowych substancji psychoaktywnych w próbkach z polskiego rynku (2013 -2014)*, Konferencja Europejskie standardy jakości w profilaktyce uzależnień, **KBPN**, **MCPS**, Warszawa;
- N13. A. Błażewicz, 8-9.12.2014, referat: *Identyfikacja nowych substancji psychoaktywnych w próbkach z polskiego rynku - wyniki analiz (2012 -2014)*, X Spotkanie programów redukcji szkód, **KBPN**, Warszawa;
- N14. A. Błażewicz, 3.09-4.09.2015, referat: *Recent cases of new psychoactive substances from the Polish market – Identification by LC-MS, GC-MS and NMR*, Reitox regional academy for Baltic countries 'Monitoring and response to new psychoactive substances' **EMCDDA**, **KBPN**, Kraków;
- N15. A. Błażewicz, 30.09-1.10.2015, referat: *Identyfikacja nowych substancji psychoaktywnych w środkach zastępczych – wyniki analiz Narodowego Instytutu Leków*, Międzynarodowa współpraca w zakresie zwalczania przestępczości narkotykowej - seminarium w ramach projektu "Drakkar" - polsko-norweski kurs na bezpieczeństwo strefy Schengen; **Laboratorium Kryminalistyczne Komendy Wojewódzkiej Policji w Poznaniu**, Tarnowo Podgórne;

- N16.** A. Błażewicz, 20.10.2015 komunikat: *Narodowy Instytut Leków jako biegły instytucjonalny w opiniowaniu nowych substancji psychoaktywnych*, Konferencja "Dopalacze" - czy można z nimi skutecznie walczyć, **Prokuratura Generalna**, Warszawa;
- N17.** A. Błażewicz, 27-29.06.2016, referat: *Nowe substancje psychoaktywne i środki zastępcze w produktach z polskiego rynku – wyniki analiz Narodowego Instytutu Leków*, III Ogólnopolska Konferencja Narkotyki – Narkomania. Polityka, Nauka i Praktyka. Dylematy lokalnej polityki narkotykowej, **KBPN**, Raszyn-Falenty;
- N18.** A. Błażewicz, 29.09-1.10.2016, referat: *Nowe narkotyki syntetyczne - dopalacze*, IX Kongres Młodej Farmacji, Łódź;
- N19.** A. Błażewicz, 26-27.10.2016, referat: *Recent cases of NPS from the Polish market – NPS analysis identified by NMI*, Międzynarodowa Konferencja Nowe Substancje Psychoaktywne w Europie - New psychoactive substances in Europe, **EMCDDA, KBPN**, Poznań;
- N20.** A. Błażewicz, 9-10.10.2017, referat: *Produkty sfałszowane i nielegalne na przykładzie działalności NIL i Sieci Państwowych Laboratoriów Kontroli Produktów Leczniczych (OMCL Network)*, Konferencja **Głównego Inspektora Farmaceutycznego (GIF)** Przedsiębiorca farmaceutyczny wobec nowych wyzwań prawnych, Warszawa;
- N21.** A. Błażewicz, 10.11.2017, referat: *Nowe opioidy i benzodiazepiny identyfikowane w Polsce*, Konferencja Monitorowanie oraz przeciwdziałanie narkomanii na poziomie lokalnym, **KBPN, MCPS**, Warszawa;
- N22.** A. Błażewicz, 21.05.2018 referat: *Nowe narkotyki w Polsce w doświadczeniach Narodowego Instytutu Leków*, Seminarium naukowe i debata: Dopalacze - co zyskujesz, czym ryzykujesz? **Główny Inspektor Sanitarny (GIS)**, UKSW, Warszawa;
- N23.** A. Błażewicz, 16-17.07.2018, referat: *Substancje farmaceutyczne i produkty lecznicze stosowane niezgodnie z przeznaczeniem*, II Międzynarodowa Konferencja Przeciwdziałanie narkomanii na poziomie lokalnym, II International Conference Drug response at local level, **KBPN, MZ, Narodowy Program Zdrowia (NPZ)**, Warszawa;
- N24.** A. Błażewicz, 21.09.2018, referat: *Nowe opioidy i benzodiazepiny identyfikowane w Polsce*, Wojewódzka Konferencja na temat Strategii Rozwiązywania Problemu Uzależnień, **Polska Sieć Polityki Narkotykowej, KBPN, MZ, NPZ**, Warszawa;
- N25.** A. Błażewicz, 18.12.2018, referat: *Nowe substancje psychoaktywne identyfikowane w Polsce i możliwości ich wykrywania - wyzwanie dla analityków*, w ramach projektu naukowego Narodowego Programu Zdrowia **NPZ - DOPMED** Konferencja dla diagnostów laboratoryjnych, Instytut Medycyny Pracy, Łódź;
- N26.** A. Błażewicz, 18.12.2018, referat: *Nowe substancje psychoaktywne identyfikowane w Polsce i możliwości ich wykrywania - wyzwanie dla analityków*, w ramach projektu naukowego Narodowego Programu Zdrowia **NPZ - DOPMED** Konferencja dla lekarzy, Instytut Medycyny Pracy, Łódź;

Seminaria w Narodowym Instytucie Leków

1. *Oznaczanie zanieczyszczeń 2,6-dimetyloaniliną i o-toluidyną oraz substancji czynnych w preparatach do znieczuleń miejscowych metodą HPLC z detekcją amperometryczną*, 22.11.2002 r.;
2. *Zastosowanie HPLC z detekcją kulometryczną i koronową w ocenie jakości produktów leczniczych*, 13.05.2008 r.;

3. *Możliwości wykorzystania technik analitycznych stosowanych w Zakładzie Leków Sfałszowanych i Używek: Spektrometria Mas LC-MS/MS; 10.04.2017 r.;*
4. **Jesienne Spotkania Problemowe (dla przedstawicieli MZ, GIS, PZH, GIF, URPL, Izby Aptekarskiej, WUM i UW oraz prokuratury, policji);** Nadzór merytoryczny nad spotkaniem *Leki stosowane niezgodnie z przeznaczeniem*, składającym się z trzech wykładów: 1) Substancje farmaceutyczne i produkty lecznicze stosowane w celu odurzania się, 2) Leki stosowane niezgodnie z przeznaczeniem w celu wykonania aborcji, 3) Substancje aktywne farmakologicznie stosowane jako środki dopingujące; referat: *Substancje farmaceutyczne i produkty lecznicze stosowane w celu odurzania się; 7.11.2018 r.*

9. Opieka naukowa nad studentami

Bezpośredni opiekun naukowy **9 doświadczalnych prac magisterskich** na kierunku Farmacja Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Wiele z tych prac zajęło miejsca I-III w grupach tematycznych w Konkursie Prac Magisterskich Wydziału Farmaceutycznego WUM, dwie prace zajęły **I miejsce w wydziałowym finale** tego konkursu, a jedna praca zajęła **I miejsce w ogólnopolskim finale konkursu**).

1. 2006 r. „Oznaczanie rokuronium i jego zanieczyszczeń w roztworze do wstrzykiwań ESMERON metodą HPLC z detekcją amperometryczną” Magdalena Boruta;
2. 2007 r. „Oznaczanie nowego związku zwiotczającego mięśnie SZ1677 i jego zanieczyszczeń metodą HPLC z detekcją amperometryczną i kulometryczną” Justyna Banasiuk;
3. 2007 r. „Oznaczanie bromku pipekuronium i jego zanieczyszczeń w preparacie farmaceutycznym Arduan metodą HPLC z detekcją kulometryczną” Karolina Samsel; (I miejsce w pierwszym etapie konkursu prac magisterskich w grupie tematycznej - Analiza Leku);
4. 2008 r., „Oznaczanie bromku pankuronium i jego zanieczyszczeń w produkcie leczniczym PANCURONIUM metodą HPLC z detekcją wyładowań koronowych” Oktawia Mazurek;
5. 2008 r. „Oznaczanie związków zwiotczających mięśnie szkieletowe pochodnych benzyloizochinolin oraz ich zanieczyszczeń w produktach leczniczych metodą HPLC z detekcją wyładowań koronowych” Magdalena Jadach; (**I miejsce w Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich WUM, I miejsce w Ogólnopolskim Konkursie Prac Magisterskich Wydziałów Farmaceutycznych**);
6. 2014 r. „Identyfikacja substancji farmakologicznie aktywnych w wybranych sfałszowanych i nielegalnych produktach leczniczych oraz suplementach diety metodą tandemowej spektrometrii mas z analizatorem czasu przelotu” Dagmara Kwiatkowska-Różycka (**I miejsce w Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich WUM, wyróżnienie w Ogólnopolskim Konkursie Prac Magisterskich Wydziałów Farmaceutycznych**);
7. 2014 r. „Identyfikacja substancji psychoaktywnych obecnych w „środkach zastępczych” metodą tandemowej spektrometrii mas z analizatorem czasu przelotu” Jan Borowski (III miejsce w pierwszym etapie konkursu prac magisterskich w grupie tematycznej - Analiza Leku);

8. 2015 r. „Identyfikacja składu środków zastępczych metodą spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią gazową” Natalia Olech;
9. 2016 r. „Opracowanie metody LC-MS-QTOF w celu wykrywania i analizy białek” Magdalena Radlińska (II miejsce w pierwszym etapie konkursu prac magisterskich w grupie tematycznej - Analiza Leku).

10. Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego

1. **Promotor pomocniczy:** doktorantka Karolina Stypułkowska, 2013-2016, praca pt. *Oznaczanie wybranych antybiotyków aminoglikozydowych oraz ich zanieczyszczeń metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detekcją wyładowań koronowych i spektrometrii mas*; obroniona dn. 19.10.2016 r. na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, decyzją Rady Wydziału otrzymała najwyższe wyróżnienie **summa cum laude**; Promotor: Prof. dr hab. Zbigniew Fijałek, Recenzenci: Prof. dr hab. Anna Gumieniczek; Dr hab. prof. UJ Włodzimierz Opoka
2. **Opiekun bezpośredni:** doktorantka Magdalena Popławska, 2011-2015, praca pt. *Opracowanie komplementarnych metod identyfikacji i oznaczania substancji aktywnych farmakologicznie w produktach nielegalnych i sfałszowanych*; obroniona dn. 11.03.2015 r. na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, decyzją Rady Wydziału otrzymała najwyższe wyróżnienie **summa cum laude**; Promotor: Prof. dr hab. Zbigniew Fijałek, Promotor pomocniczy: -, Recenzenci: prof. dr hab. Wacław Kołodziejewski, prof. dr hab. Jan Ludwicki

11. Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

1. Instytut Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Bonn (Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität), w okresie 09.1999-05.2000 **stypendystka** programu **Socrates-Erasmus**;
2. Centrum Badań Naukowych (Forschungszentrum) (Research Centre, Department of Safety and Radiation Protection) w Jülich, Niemcy, 29.01-21.02.2007 **staż naukowy**;
3. Szkolenia w ramach sieci Państwowych Laboratoriów Kontroli Jakości Leków (OMCL) przy Europejskim Dyrektoriacie ds. Jakości Leków i Ochrony Zdrowia (EDQM) w Strasburgu, dotyczące badania produktów podejrzewanych o sfałszowanie różnymi metodami analitycznymi:
 - **Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES)**, Wiedeń, Austria; 29-31.01.2014, Anti-Counterfeit/Illegal Medicines Testing Training for OMCLs (GC/MS, UPLC/Q-TOF-MS);
 - **The French National Agency for Medicines and Health Products Safety (ANSM)**, Montpellier, Francja; 5-6.11.2014, Anti-Counterfeit/Illegal Medicines Testing Training for OMCLs (NIR, Raman, chemometria);
 - **The Swedish Medical Products Agency (MPA)**, Uppsala, Szwecja; 11-14.10.2016, Anti-Counterfeit/Illegal Medicines Testing Training for OMCLs (NMR);

4. Ukończyłam szereg szkoleń z zakresu metod chromatograficznych, elektrochemicznych i spektroskopowych oraz systemu zarządzania jakością:
- Szkolenia Systemu Zarządzania Jakością, zgodnie z normą ISO-17025, systematycznie;
 - Kontrola jakości w laboratorium, walidacja metod analitycznych, systematycznie;
 - OMCL Inventory Database Training Session, EDQM, Wiedeń, Austria, 2007 r.;
 - Training Session: European Pharmacopoeia 6th Edition, EDQM, 2007 r.;
 - Basic Training on Quality Assurance, EDQM, 2007 r.;
 - Szkolenie aplikacyjne dotyczące spektrometrii mas - Mass spectrometry – micrOTOF-Q II Low Molecular Weight Applications, 2009 r.;
 - Szkolenie aplikacyjne dotyczące spektrometrii mas - Mass spectrometry – micrOTOF-Q II Advanced Operator trainings, Brema, Niemcy, 2009 r.;
 - Dowód z opinii biegłego i instytutu naukowego w postępowaniu cywilnym, Okręgowa Izba Radców Prawnych w Warszawie (OIRP Warszawa), 2014 r.;
 - Szkolenie aplikacyjne dotyczące GC-MS TQ8040 i oprogramowania GCMSSolution, 2015 r.;
 - Szkolenie aplikacyjne dotyczące LC-MS/MS i oprogramowania MASSHUNTER, 2015 r.;
 - Ocena zgodności wyrobów medycznych z wymaganiami dyrektyw Unii Europejskiej, Polskie Centrum Badań i Certyfikacji (PCBC), 2017 r.;
 - European SPOC (Single Point Contact) KnowX Database Workshop, Brussels, Belgia, 2017 r.; dla osób do kontaktu odnośnie produktów sfałszowanych i nielegalnych jako HMA WGEO SPOC (Working Group of Enforcement Officers - Single Point of Contact).

12. Wykonane ekspertyzy lub inne opracowania na zamówienie

Działalność ekspercka

- Ocena dokumentacji chemicznej, farmaceutycznej i biologicznej produktu leczniczego chemicznego w ramach umowy z Urzędem Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (URPLW MiPB), złożonej w związku z dostosowaniem do wymogów aktualnie obowiązującego prawa na etapie rejestracji, re-rejestracji, harmonizacji oraz dokumentacji złożonej w procesie zmian w pozwoleniu i dokumentacji dotyczącej wprowadzenia do obrotu produktu leczniczego, zarówno typu I, jak i typu II.
- Ocena zgłoszeń pojedynczych przypadków działań niepożądanych produktów leczniczych (*Pharmacovigilance*).
- Autor i współautor ponad 300 opinii wykonanych na zlecenie organów ścigania i wymiaru sprawiedliwości, dotyczących produktów podejrzewanych o sfałszowanie, nielegalne wprowadzenie do obrotu czy zawierających nowe substancje psychoaktywne lub środki zastępcze.
- Autor i współautor licznych ekspertyz wykonanych na zlecenie organów państwowych: Głównego Inspektora Sanitarnego (GIS), Głównego Inspektora Farmaceutycznego (GIF), Głównego Inspektora Weterynaryjnego (GIW), dotyczących produktów podejrzewanych o sfałszowanie, nielegalne wprowadzenie do obrotu czy zawierających nowe substancje psychoaktywne lub środki zastępcze.

13. Udział w zespołach eksperckich i konkursowych

1. W roku 2018 zostałam powołana przez Departament Rozwoju Regionalnego i Funduszy Europejskich Urzędu Marszałkowskiego Województwa Mazowieckiego w Warszawie w skład Zespołu Ekspertów oceniających wnioski konkursowe w ramach X edycji Konkursu **Innowator Mazowsza** w kategorii **Innowacyjny Młody Naukowiec**.
2. W roku 2018 zarządzeniem Dyrektora NIL zostałam powołana do stałej **Komisji ds. Programu Badawczo-Rozwojowego dla Młodych Pracowników Naukowych NIL**.

14. Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych

Brak

15. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych

Wykonałam 9 recenzji artykułów do czasopism naukowych:

1. *Food Additives and Contaminants Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2017 (IF 2,22), 1 publikacja (2011);
2. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, (5-Year IF: 2,863), 5 publikacji (2011-2014);
3. *Problemy Kryminalistyki* (IF 0), 1 publikacja (2016);
4. *Journal of Chromatography B* (IF 2,441), 1 publikacja (2017);
5. *Forensic Toxicology* (IF 3,924), 1 publikacja (2019).

16. Inne osiągnięcia

Współpraca naukowa

Współpraca z jednostkami spoza Narodowego Instytutu Leków

1. **European Commission**, Directorate General Joint Research Centre (JRC) Directorate F – Health, Consumers and Reference Materials, Ispra (VA), Italy – Dr. Claude Guillou, Dr. Fabiano Reniero (współpraca w zakresie identyfikacji nowych substancji psychoaktywnych przy projekcie *CLEN2SAND*).
2. **Instytut Medycyny Pracy** im. Nofera w Łodzi, Oddział Toksykologii - prof. Anna Krakowiak, Pracownia Diagnostyki Toksykologicznej - dr Renata Winnicka (wspólny projekt naukowy *DOPMED* realizowany w ramach Narodowego Programu Zdrowia, badanie próbek biologicznych od pacjentów z podejrzeniem zatrucia nowymi substancjami psychoaktywnymi).
3. **Zakład Medycyny Sądowej** WUM, Pracownia Toksykologiczna - mgr Agnieszka Siwińska-Ziółkowska (wspólne opinie dla Prokuratury dotyczące badania materiału biologicznego i wykrywania substancji aktywnych farmakologicznie).
4. **Instytut Sportu**, Zakład Badań Antydopingowych - dr hab. Dorota Kwiatkowska (wspólny projekt dotyczący badania suplementów diety pod kątem zafałszowania substancjami dopingującymi).
5. **Instytut Psychiatrii i Neurologii**, Zakład Badań nad Alkoholizmem i Toksykomaniami - dr Łukasz Wieczorek, dr Michał Bujalski (wspólny projekt naukowy *Dopalamy wiedzę* realizowany w ramach Narodowego Programu Zdrowia).

6. **Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji (CLKP)** – Instytut Badawczy, podins. Anna Duszyńska, dr Robert Bachliński (przygotowywanie wspólnych projektów naukowych do NCN dotyczących nowych substancji psychoaktywnych).
7. **Agencja Bezpieczeństwa Wewnętrznego (ABW)**, Biuro Badań Kryminalistycznych - dr Dariusz Błachut (wspólne badania dotyczące identyfikacji nowych substancji psychoaktywnych, wspólne plakaty).
8. **Gdański Uniwersytet Medyczny**, Katedra i Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny - dr hab. Małgorzata Grembecka, prof. Piotr Szefer (wspólne badania dotyczące zastosowania detektora wyładowań koronowych, wspólna publikacja, plakat).

Współpraca z ekspertami Narodowego Instytutu Leków

1. **Eksperci techniki NMR** z Zakładu Leków Sfałszowanych i Używek (wcześniej Samodzielna Pracownia RM) NIL: dr Elżbieta Bednarek, mgr inż. Jerzy Sitkowski, dr Wojciech Bocian, prof. dr hab. Lech Kozerski (wspólne publikacje i projekty naukowe).
2. **Eksperci techniki XRPD** z Zakładu Leków Sfałszowanych i Używek (wcześniej Zakład Wyrobów Medycznych) NIL: dr hab. Jan Maurin prof. NIL, dr Adam Mazurek (wspólne publikacje i projekty naukowe).

Działalność organizacyjna

1. Pełnienie funkcji Kierownika Pracowni Metod Elektrochemicznych (6 osób) od 2009 r. w ramach Zakładu Chemii Farmaceutycznej NIL, a od 01.01.2018 r. do chwili obecnej Kierownika Laboratorium XRPD-MS-NMR (12 osób) w Zakładzie Leków Sfałszowanych i Używek NIL. Odpowiedzialność merytoryczna w zakresie działalności kontrolno-badawczej koordynowanej przez Główny Inspektorat Farmaceutyczny (GIF), dla próbek produktów leczniczych. Praca podlegająca ocenie audytorskiej, zarówno wewnętrznej, jak i zewnętrznej, przez GIF, a także audytorów z Polskiego Centrum Akredytacji (PCA) oraz Europejskiego Dyrektoriatu ds. Jakości Leków i Ochrony Zdrowia (EDQM).
2. Członek Rady Naukowej Narodowego Instytutu Leków, 2017 r.
3. Kierownik Techniczny NIL w dziedzinie Spektrometria Mas od 2013 r. (wcześniej zastępca). Odpowiedzialna za przygotowanie do akredytacji oraz utrzymanie akredytacji dla metody badania składu jakościowego (identyfikacja i potwierdzenie tożsamości) związków w zakresie mas 90-1100 m/z techniką LC-MS/MS przez Polskie Centrum Akredytacji (Certyfikat akredytacji nr AB 774) oraz atestacji przez EDQM (certyfikat MJA-126).
4. Pełnienie funkcji osoby do kontaktu odnośnie produktów sfałszowanych i nielegalnych jako HMA WGEO SPOC (*Working Group of Enforcement Officers - Single Point of Contact*).
5. Pełnienie funkcji administratora bazy NIL w sieci OMCL - Know-X, dotyczącej produktów nielegalnych i sfałszowanych.
6. Pełnienie funkcji administratora bazy NIL w sieci OMCL-Inventory Database (2007-2016).

VII. Podsumowanie osiągnięć naukowo-badawczych

Łączna liczba publikacji i monografii - **30** (w tym **9** opublikowanych przed doktoratem i **21** po doktoracie), w **13** jestem autorem pierwszym i/lub korespondencyjnym):

- Liczba publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej – **21** (**8** przed doktoratem, z których w **5** jestem autorem pierwszym i korespondencyjnym oraz **13** po doktoracie, z których w **6** jestem autorem pierwszym i/lub korespondencyjnym);
- **7** publikacji spoza listy filadelfijskiej;
- **2** rozdziały w monografiach, w tym jedna monografia (na zaproszenie) o zasięgu międzynarodowym;
- **69** wystąpień konferencyjnych: międzynarodowych (**20**) i krajowych (**49**);
- **15** wystąpień ustnych (komunikatów i referatów) na **6** konferencjach międzynarodowych (oraz przewodniczenie i prowadzenie sesji naukowej na jednej) i **9** na konferencjach krajowych (oraz przewodniczenie i prowadzenie sesji naukowych na czterech);
- Sumaryczna punktacja MNiSW **528**;
- Sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: **58,631** (IF = **23,418** przed doktoratem, IF = **35,213** po doktoracie);
- Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS) z dn. 11.02.2019, (bez autocytowań): **201**
- Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS) z dn. 11.02.2019: **11**

Agata Błażewicz