



Zakład Farmakognozji  
z Ogrodem Roślin Leczniczych  
UNIwersytetu MEDYCZNEGO W LUBLINIE  
ul. Chodźki 1, 20-093 LUBLIN  
tel./fax +48 81 4487080 e-mail: wirginia.kukula-koch@umlub.pl

---

Lublin, 27.11.2024

Prof. dr hab. Wirginia Kukuła-Koch

Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

na stopień doktora nauk medycznych i nauk

o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

mgr Jakuba Gębalskiego

pt.

***„Roślinne inhibitory hialuronidaz i tyrozyminy – aspekt chemiczny i farmakologiczny  
oraz implementacje przemysłowe”***

Zrealizowanej pod opieką naukową Promotora, dr hab. n. farm. Daniela Załuskiego, prof. UMK

Rozprawa doktorska Pana mgr farm. Jakuba Gębalskiego została przygotowana w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu Collegium im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i stanowi cykl trzech opublikowanych artykułów naukowych powiązanych tematycznie. W treści poddawanej ocenie rozprawy oprócz

*Wirginia - Koch*

pełnych tekstów trzech publikacji odnajdujemy klarowny wstęp do prowadzonych badań, powody podjęcia badań, cele i hipotezy badawcze, streszczeniami w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, opis sylwetki doktoranta, stosowne oświadczenia o wkładzie merytorycznym w powstałe publikacje naukowe oraz dokumenty potwierdzające otrzymanie zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzone badania.

Struktura pracy jest zgodna z aktualnymi wymaganiami ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 (z późniejszymi zmianami), art. 187, pkt. 3 i 4.

Analiza sygnowanych oświadczeń współautorów trzech publikacji naukowych stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora pozwala stwierdzić, że wkład Doktoranta w ich powstanie jest wiodący (szacowany udział procentowy w kolejnych pracach to 90, 70 oraz 60%) i polegał na opracowaniu koncepcji badań, prowadzeniu eksperymentów naukowych, analizie otrzymanych danych i przygotowaniu manuskryptów. Szeroki zakres zadań podejmowanych przez Doktoranta w procesie redakcyjnym świadczy o dużej dojrzałości i samodzielności. Wspomniane prace naukowe o sumarycznej wartości IF=14,7 punktów (420 punktów MEiN) zostały opublikowane na łamach czasopism o wysokim współczynniku oddziaływania Impact Factor: *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *International Journal of Molecular Sciences* oraz *Molecules* w latach 2022-2024. Wśród nich znajduje się jedna praca przeglądowa i dwie prace oryginalne, a we wszystkich z nich Pan magister jest pierwszym autorem.

Wobec powyższego wiodąca rola Pana magistra Jakuba Gębalskiego nie budzi wątpliwości.

Uzupełnieniem treści bezpośrednio związanych z badaniami naukowymi prowadzonymi w ramach studium doktoranckiego są zaprezentowane w obszernym rozdziale informacje o imponującym całkowitym dorobku Doktoranta, o otrzymanym wykształceniu, odbytych szkoleniach, udziale w konferencjach naukowych, w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych, o realizowanych grantach, odbytych stażach, zgłoszeniach patentowych, recenzowanych artykułach naukowych, o otrzymanych nagrodach, a także o podejmowanej przez Pana magistra aktywności organizacyjnej i dydaktycznej. Z wielką radością przeglądałam dorobek Pana magistra Gębalskiego, wykraczający znacząco ponad wymogi stawiane doktorantom. W tym miejscu chciałam życzyć dalszego zapału do prowadzenia badań naukowych i aktywnego udziału w wydarzeniach i inicjatywach badawczych.

### **Podjęta tematyka badawcza i realizacja badań**

Tematyka badawcza podejmowana w rozprawie doktorskiej Pana magistra Jakuba Gębalskiego wpisuje się w nurt poszukiwań nowych efektywnych inhibitorów enzymów hialuronidazy

i tyrozynazy, które mogłyby zastąpić stosowane na rynku i obarczone licznymi działaniami niepożądanymi substancje, takie jak kwas kojowy, czy hydrochinon i jego pochodne. Podjęta tematyka badawcza jest aktualna, a poszukiwania nowych inhibitorów niniejszych enzymów są ważne, szczególnie teraz – w obliczu nowych doniesień naukowych potwierdzających korelację pomiędzy wzrostem skuteczności terapii nowotworów skóry a stosowaniem substancji hamujących tworzenie melaniny w skórze.

W najnowszych badaniach naukowych poszukuje się ponadto efektywnych inhibitorów hialuronidaz. Związki o potwierdzonym działaniu tego typu mogą być stosowane nie tylko jako odtrutki, środki antykoncepcyjne, czy leki przeciwwirusowe, ale także jako skuteczne leki przeciwnowotworowe, które mogą zwalniać proces nowotworzenia i powstawania przerzutów w chorobie nowotworowej.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest analiza fitochemiczna i biologiczna wyciągów z rozpowszechnionej na terenie Azji i stosowanej w tradycyjnej medycynie Chin i Syberii rośliny z rodziny araliowatych: *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y. Hu. Bez wątplenia roślina ta jest bardzo ciekawym obiektem doświadczalnym. Charakteryzuje ją zdolność do syntezy różnych grup metabolitów wtórnych. Wśród nich – zależnie od badanego organu - wyróżniono już obecność pochodnych lignanów i fenylopropanu (eleuterozydów), kwasów fenolowych, flawonoidów, glikozydów fenolowych, związków terpenowych, czy kumaryn. Wśród metabolitów pierwotnych ważnymi składnikami są z pewnością polisacharydy, które wspierają działanie immunostymulujące rośliny.

Wybrany gatunek eleuterokoka wykorzystywany był od lat jako środek przeciwzapalny i immunostymulujący. Mimo udokumentowanych działań farmakologicznych w literaturze naukowej brak jest wystarczających informacji na temat udziału poszczególnych grup związków czynnych w całkowitym działaniu rośliny, na temat oceny bezpieczeństwa rośliny, a badania potencjału kosmetycznego przeprowadzone w ramach realizacji niniejszej pracy doktorskiej są pierwszymi doniesieniami tego typu.

Cykl publikacji będących ocenianym osiągnięciem otwiera praca przeglądowa na temat naturalnych i półsyntetycznych inhibitorów hialuronidazy i tyrozynazy, która stanowi preludium do prowadzonych przez Doktoranta badań. Wysoko cenię decyzję o opracowaniu tego typu publikacji jako przygotowania do podejmowanej później tematyki badawczej. Niniejsza praca przeglądowa uwzględniająca publikacje z ostatnich 30 lat pozwoliła Doktorantowi zaobserwować korelacje pomiędzy strukturą cząsteczki, a zdolnością do hamowania obydwu enzymów. W przypadku tyrozynazy: obecność grup hydroksylowych w położeniu rezorcynolu lub katecholu predysponowała do hamowania aktywności enzymu, a metylacja grup hydroksylowych osłabiała działanie hamujące.

Z analizowanych prac dotyczących wpływu na enzym hialuronidazę wynika, iż obecność podwójnego wiązania pomiędzy atomami węgla C-1 i C-2 w związkach z grupy flawonoidów, a także grup hydroksylowych przy atomach węgla C-4', C-5 i C-7 wzmacniała działanie hamujące aktywność tego enzymu.

Wyciągnięte wnioski pomogły Panu magistrowi planować dalsze eksperymenty i właściwie dobrać grupę metabolitów roślinnych do dalszych badań naukowych – tak, aby wśród analizowanych struktur nie pominąć potencjalnie aktywnych metabolitów.

W pracy oryginalnej pt. „*Eleutherococcus divaricatus* fruits decrease hyaluronidase activity in blood serum and protect from antioxidative damages in in vitro model” przeprowadzona jest analiza kompozycji owoców pozyskanych z niniejszego gatunku przy pomocy chromatografii HPLC z detekcją UV, a także badania aktywności antyenzymatycznej i przeciwrodnikowej w testach spektrofotometrycznych. Bardzo interesującym zagadnieniem opisanym na kartach niniejszej pracy jest prowadzenie badań inhibicji hialuronidazy na próbkach surowicy ludzkiej pozyskanej od pacjentów onkologicznych. Przeprowadzone testy pozwoliły potwierdzić właściwości hamujące aktywność enzymu przez ekstrakt *E. divaricatus*.

Trzecia publikacja skupia się na analizie podobnych właściwości biologicznych korzenia tej rośliny. W ostatniej pracy doktorant prowadzi badania kompozycji oraz właściwości biologicznych *in vitro* na ekstraktach różnej polarności, a najbardziej aktywny wyciąg otrzymany przy użyciu 75 % metanolu – frakcjonuje, stosując technikę ekstrakcji ciecz-ciecz. Frakcja octanowa – bogata w związki fenolowe, w tym w pochodne kwasu chlorogenowego i dikawoilochinowego – najsilniej hamowała aktywność tyrozynazy i hialuronidazy w osoczu. Nie odnotowano cytotoksycznych właściwości analizowanej frakcji w stosunku do linii komórkowych czerniaka, a co więcej potwierdzono zdolność tej frakcji do hamowania działania doksorubicyny – stosowanego powszechnie w terapii nowotworów chemioterapeutyku. To bardzo istotny wniosek wynikający z przeprowadzonych badań i wniosek, który wskazuje na ostrożność podczas jednoczesnego stosowania adaptogenów i chemioterapeutyków w terapii nowotworów.

Praca doktorska napisana jest w bardzo czytelny sposób. Doktorant unika błędów edytorskich, klarownie podkreśla najważniejsze aspekty prowadzonych przez siebie prac badawczych, podkreśla ważne etapy prowadzonych badań i dobrze orientuje się w metodyce badawczej dotyczącej zarówno części fitochemicznej, jak i biologicznej. Przeważający do oceny autoreferat bardzo dobrze się czyta.

Wymienione powyżej osiągnięcia jednoznacznie dowodzą oryginalności przeprowadzonych badań, wskazują na ich nowatorski charakter, a także – i przede wszystkim – potwierdzają nabytą przez

Doktoranta samodzielność w prowadzeniu interdyscyplinarnych badań naukowych. Warto podkreślić, że Doktorant otrzymał od Pana Promotora solidne wykształcenie i dobry warsztat badawczy.

W tym miejscu chciałam zadać Doktorantowi kilka pytań do dyskusji w trakcie obrony:

1. Jak podchodzi Pan do różnic w aktywności hamującej enzym tyrozynazę zależną od rodzaju stosowanego enzymu (tyrozynaza grzybowa, mysia i ludzka)? Czy podobne grupy metabolitów roślinnych są inhibitorami każdego typu tyrozynazy? Jakie różnice w aktywności podaje literatura naukowa?
2. Jakie stężenia badanych przez Pana wyciągów wykazują najkorzystniejsze działanie hamujące w stosunku do enzymu hialuronidazy?
3. Czy prowadził Pan dalsze badania zmierzające ku izolacji pojedynczych molekuł z analizowanych wyciągów/frakcji? Jakie techniki badawcze mogłyby być wykorzystane do tego celu?
4. Jak widzi Pan możliwość przemysłowego wykorzystania otrzymanych przez Pana wyników? Czy miał Pan już okazję zaciekawić przedstawicieli przemysłu Pana wynikami badań?

#### **Podsumowanie**

Rozprawa doktorska Pana mgr Jakuba Gębalskiego spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 roku, poz. 742), w związku z czym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu z wnioskiem o nadanie mgr Jakubowi Gębalskiemu stopnia doktora w nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Z uwagi na wysoki poziom prowadzonych badań wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr Jakuba Gębalskiego.

Wirginia Kukuła-Koch



prof. dr hab. n. farm.  
Wirginia Kukuła-Koch