



Prof. dr hab. Ewa Osińska
emerytowany profesor Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych
Instytut Nauk Ogrodniczych
SGGW w Warszawie

Warszawa 26 listopada 2024 roku

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr farm. Jakuba Gębalskiego

pt. „Roślinne inhibitory hialuronidaz i tyrozynazy aspekt chemiczny i farmakologiczny oraz implementacje przemysłowe”

wykonanej w Collegium Medicum w Bydgoszczy, Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem dr hab. n. farm. Daniela Załuskiego, prof. UMK

Podstawa opracowania recenzji

Podstawą opracowania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne w Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu Nr 97/2024 z dnia 22 października 2024 r.

1. Podstawowe informacje o ocenianej rozprawie doktorskiej

Mgr farm. Jakub Gębalski przedstawił pracę doktorską zatytułowaną „**Roślinne inhibitory hialuronidaz i tyrozynazy aspekt chemiczny i farmakologiczny oraz implementacje przemysłowe**” w formie cyklu trzech anglojęzycznych publikacji powiązanych tematycznie, które opublikowano w latach 2022-2024. Łączna wartość Impact Factor (IF) dla prac wchodzących w cykl wynosi 14,7. Łączna wartość punktów Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) to: 420 (dane na dzień 20.09.2024 r.)15.049, natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW to 420.

[P.1]. **Gębalski J.**, Graczyk F., Załuski D. Paving the way towards effective plant-based inhibitors of hyaluronidase and tyrosinase: A critical review on a structure–activity relationship. *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.* 2022; 37(1), 1120-1195. Impact Factor: 5.6 Punktacja MNiSW: 140,0.

[P.2]. **Gębalski J.**, Małkowska M., Gawenda-Kempczyńska D., Słomka A., Strzemski M., Styczyński J., Załuski D. Eleutherococcus divaricatus fruits decrease hyaluronidase activity in blood serum and protect from antioxidative damages in in vitro model. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(4):2033. Impact Factor: 4,9 Punktacja MNiSW: 140,0.

[P3]. **Gębalski J.**, Małkowska M., Wnorowska S., Gawenda-Kempczyńska D., Strzemski M., Wójciak M., Słomka A., Styczyński J., Załuski D. Ethyl acetate fraction from Eleutherococcus divaricatus root extract as a promising source of compounds with anti hyaluronidase, anti-tyrosinase, and antioxidant activity but not anti-melanoma activity. *Molecules.* 2024; 29(15):3640. Impact Factor: 4.2 Punktacja MNiSW: 140.000

Udział procentowy mgr farm. Jakuba Gębalskiego w przygotowaniu poszczególnych publikacji wynosi od 60% do 90% i jest potwierdzony deklaracjami współautorów. Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich tych publikacji, uczestniczył we wszystkich etapach ich powstawania, od opracowania koncepcji badawczej, metodologii, nadzoru, poprzez prowadzenie doświadczeń, obserwacji oraz analiz biologicznych i fitochemicznych, po opracowanie wyników i tworzenie manuskryptu. Jego znaczący udział w przedstawionych pracach nie budzi zastrzeżeń. Poza kopiami opublikowanych artykułów do ocenianego opracowania dołączono streszczenie pracy (w języku polskim i angielskim) oraz zamieszczony na 23 stronach opis badań. Obejmuje on:

- wstęp tj. część teoretyczną (w tym: rośliny jako źródło leków, charakterystykę botaniczną *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu, charakterystykę fitochemiczną i fitofarmakologiczną tego gatunku, opis hialuronidazy oraz tyrozynazy).
- powody podjęcia badań,
- cel badań,
- wyniki badań, w tym ich wkład w rozwój nauki, możliwości aplikacyjne i perspektywy dalszych badań,
- wnioski,
- piśmiennictwo obejmujące 40 pozycji w języku angielskim,
- oraz spis rycin i tabel.

Jest on przygotowany właściwie i napisany poprawnym, zwięzłym językiem. Odwołuje się do wyników opublikowanych w trzech pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, stanowiąc przejrzystą i zrozumiałą całość.

Rozprawa doktorska jest w mojej ocenie kompletna, a jej układ oceniam jako prawidłowy.

2. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Ocena podjętej problematyki badawczej

W pierwszej kolejności odniosę się do celowości podjętego przez mgr farm. Jakuba Gębalskiego tematu pracy doktorskiej.

Tyrozynaza jest enzymem szeroko rozpowszechnionym w środowisku naturalnym, pełniącym u wszystkich organizmów wiele ważnych biologicznie funkcji. Jest kluczowym enzymem biosyntezy melanin, które odpowiedzialne są za kolor ludzkiej skóry, oczu i włosów. Melaniny stanowią barierę ochronną przed szkodliwym wpływem promieniowania UV i stresem oksydacyjnym, których efektem mogą być mutacje w komórkowym DNA oraz zapoczątkowanie procesu kancerogenezy. Zwiększona aktywność tyrozynazy przyczynia się do powstawania wielu schorzeń takich jak hiperpigmentacja czy melazma. Inhibitory tyrozynazy znajdują zastosowanie jako środki terapeutyczne w leczeniu schorzeń związanych z pigmentacją. Nowe inhibitory tyrozynazy mają szczególne zastosowanie w dermatologii i produkcji żywności. Soki przygotowywane z owoców i warzyw z powodu brązowienia mają krótki okres przydatności do spożycia. Aby wydłużyć okres przydatności do spożycia i zachować naturalny, świeży wygląd, przemysł przetwórstwa owoców wymaga opracowania nowych, skutecznych i bezpiecznych inhibitorów tyrozynazy. Ponadto inhibitory tyrozynazy mogą być również stosowane w leczeniu przebarwień, takich jak poparzenia słoneczne, przebarwienia pozapalne i plamy starcze.

Hialuronidaza to substancja występująca naturalnie w przyrodzie. Jest ona enzymem, czyli związkiem katalizującym (przyspieszającym) przebieg reakcji chemicznych. W tym przypadku zadaniem enzymu jest przyspieszanie hydrolizy (rozpadu pod wpływem wody) kwasu hialuronowego. Hialuronidaza ma spore znaczenie biologiczne – produkowana przez bakterie ułatwia im atakowanie komórek, natomiast w przypadku plemników ułatwia przeniknięcie do komórki jajowej. Enzym ten występuje także w jadach zwierząt – m.in. żmii oraz owadów błonkoskrzydłych (np. os i pszczoł). W farmacji hialuronidaza wykorzystywana jest jako „czynnik rozprzestrzeniający”, umożliwiający przenikanie do wnętrza komórek np. środków leczniczych. Od pewnego czasu stosuje się ją również w medycynie estetycznej, właśnie ze względu na jej zdolność do rozbijania wiązań, tworzonych przez kwas hialuronowy z wodą. Inhibitory hialuronidazy mogą być użyteczne jako narzędzia farmakologiczne, np. w połączeniu z antybiotykami w leczeniu infekcji wywołanych przez bakterie wytwarzające hialuronidazę, w tym *Streptococcus pneumoniae*, główny Gram-dodatni patogen człowieka. Identyfikacja i charakterystyka inhibitorów hialuronidazy może również przyczynić się do opracowania nowych leków przeciwnowotworowych, środków antykoncepcyjnych i odtrutek na jady i toksyny.

Obecne na rynku inhibitory tyrozynazy i hialuronidaz mają wiele niekorzystnych właściwości. Hydrochinon i arbutyna wykazują działanie mutagenne i mają skutki uboczne, takie jak pieczenie, kontaktowe zapalenie skóry, podrażnienie i rumień. Kwas kojowy jest rakotwórczy i ma niską stabilność podczas przechowywania. Kwas L-askorbinowy jest niestabilny i wrażliwy na czynniki zewnętrzne (tlen, światło, pH, temperatura). Jedynym dostępnym inhibitorem hialuronidaz jest escyna, która jednak charakteryzuje się niską biodostępnością.

Uwzględniając powyższe argumenty, niezwykle istotne jest poszukiwanie nowych inhibitorów tych enzymów, które będą charakteryzować się większą funkcjonalnością i bezpieczeństwem stosowania.

Interesującą grupą roślin o wielokierunkowym działaniu biologicznym jest rodzaj *Eleutherococcus* Maxim. Rodzaj ten obejmuje 29 gatunków, rosnących głównie w Azji (Chiny, Japonia, Korea). Najbardziej znanym przedstawicielem tego rodzaju jest *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., powszechnie stosowany w Tradycyjnej Medycynie Dalekowschodniej. Jednym z mniej znanych przedstawicieli tego rodzaju jest *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu, znany również jako oni-ukogi. Gatunek ten występuje w środkowej i południowej Japonii, na Półwyspie Koreańskim oraz w 27 kontynentalnych Chinach.

Uwzględniając powyższe, w tym kontekście Doktorant zwrócił uwagę na obecność metabolitów biologicznie aktywnych w ekstraktach pozyskanych z *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu, a także na ich aktywność na poziomie farmakologicznym. Gatunek ten cechuje się znanym już od czasów antycznych działaniem leczniczym, które wynika z różnorodnego składu chemicznego.

Problematyka ta moim zdaniem, była główną inspiracją zajęcia się przez Doktoranta powyższym tematem.

Stwierdzam, że wybór tematu rozprawy należy uznać za trafny oraz w pełni uzasadniony aktualnym stanem wiedzy i potrzebami praktyki.

Cel rozprawy i zastosowane metody badawcze

Recenzowaną dysertację można uplasować w głównym nurcie badań zmierzających do poszukiwania nowych substancji roślinnych, stanowiących, np. części nadziemne roślin.

Celem nadrzędnym rozprawy było zidentyfikowanie inhibitorów hialuronidazy oraz tyrozinazy w *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu, określenie ich cytotoksyczności wobec wybranych linii komórkowych czerniaka i właściwości antyoksydacyjnych.

Realizacja celu została oparta na dwóch strategiach (A i B):

A: identyfikacji ekstraktów/frakcji/związków czynnych o pożądanej funkcjonalności w kierunku stymulacji aktywności hialuronidazy i tyrozinazy z uwzględnieniem tych enzymów obecnych w surowicy krwi dzieci ze zdiagnozowaną ostrą białaczką limfoblastyczną, przed rozpoczęciem leczenia,

B: ocenie bezpieczeństwa na modelowych liniach czerniaka w skojarzeniu z chemioterapeutyką doksorubicyną.

Pierwsza opublikowana praca (P1) Charakterystyka naturalnych oraz półsyntetycznych inhibitorów hialuronidazy oraz tyrozinazy. Praca przeglądowa

Dotyczyła poszukiwania korelacji pomiędzy budową chemiczną związków roślinnych a ich hamującym wpływem na aktywność hialuronidazy (ludzkiej, bakteryjnej, węzowej) i tyrozinazy (grzybowej i ludzkiej). W celu potwierdzenia, że związki roślinne hamują powyższe enzymy, Doktorant dokonał krytycznej analizy artykułów oryginalnych, korzystając z następujących baz danych: ScienceDirect, PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar i ClinicalTrials. W pracy uwzględniono publikacje z okresu od stycznia 1990 r. do grudnia 2021 r. W strukturze tej pracy można wyróżnić dwie części: pierwsza poświęcona jest charakterystyce enzymów (klasyfikacja, występowanie, funkcja), a druga przedstawia zależność struktura-aktywność związków naturalnych wobec tyrozinazy oraz hialuronidazy (polifenole, alkaloidy, związki izoprenowe).

Druga praca (P2) Określenie właściwości anti-hialuronidazowych oraz anti-tyrozinazowych owoców *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu. Praca oryginalna

Prezentuje wyniki analiz fitochemicznych (zawartość związków fenolowych) i fitofarmakologicznych tj. hamującego potencjału wobec tyrozinazy (ludzkiej i grzybowej) oraz hialuronidazy (ludzkiej i bydłowej) 75% metanolowego ekstraktu z owoców *Eleutherococcus divaricatus*. Wykorzystując chromatografię cieczową z detekcją diodową (HPLC-DAD) zbadano skład ekstraktu. Testy oparte na spektrofotometrii posłużyły do oceny aktywności antyenzymatycznej oraz antyoksydacyjnej ekstraktu (chelatowanie jonów żelaza (II), DPPH, ABTS oraz FRAP).

Kolejny problem badawczy (publikacja P 3) to określenie właściwości anti-hialuronidazowych oraz anti-tyrozinazowych korzenia *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu. Praca oryginalna

W tej oryginalnej pracy określono skład chemiczny oraz aktywność farmakologiczną ekstraktów z korzenia *E. divaricatus*, w kontekście ich wpływu na tyrozinazę (ludzką

i grzybową) oraz hialuronidazę (ludzką i bydlęcą). W tym celu przygotowano cztery ekstrakty, stosując rozpuszczalniki o różnej polarności: 75% metanol, chloroform, octan etylu oraz mieszaninę metanolu, chloroformu i wody (7:3:0,4). Ekstrakty te zostały wstępnie przebadane pod kątem inhibicji hialuronidazy i tyrozynazy. Najaktywniejszy ekstrakt (75% metanolowy) poddano frakcjonowaniu metodą ekstrakcji ciecz-ciecz. Następnie określono skład chemiczny frakcji octanu etylu, która wykazała najwyższą inhibicję wobec enzymów. Ponadto, frakcja ta została przebadana *in vitro* na trzech liniach czerniaka, aby ocenić jej potencjalne działanie cytotoksyczne. Dodatkowo, określono aktywność antyoksydacyjną ekstraktów.

Dobór materiału roślinnego i zastosowane metody badawcze wykorzystujące nowoczesne sposoby analityczne, uważam za odpowiednie, pozwalające zrealizować postawione cele. Doświadczenia zaplanowano starannie z odpowiednią liczbą powtórzeń. Doktorant wykazał się znajomością zróżnicowanych metod analitycznych, których wykorzystanie znacząco podniosło wartość uzyskanych wyników.

Osiągnięcia badawcze

W publikacji P1 (2022r.) związanej z poszukiwaniem korelacji pomiędzy budową chemiczną związków roślinnych a ich hamującym wpływem na aktywność hialuronidazy (ludzkiej, bakteryjnej, węzowej) i tyrozynazy (grzybowej i ludzkiej).

Na podstawie analizy oryginalnych artykułów Doktorant z całą pewnością stwierdził, że związki naturalne są skutecznymi inhibitorami hialuronidaz i tyrozynazy. Na szczególną uwagę zasługują związki polifenolowe, których budowa chemiczna umożliwia interakcje z aminokwasami enzymów w centrum aktywnym. W przyszłości związki te mogą zostać wykorzystane do opracowania skutecznych leków w leczeniu różnych schorzeń. Jednakże należy mieć na uwadze, że większość badań została wykonana na enzymach zwierzęcych, bakteryjnych lub grzybowych. W celu uzyskania bardziej wiarygodnych wyników, które można skorelować z organizmem człowieka, w przyszłości enzymy ludzkie powinny być uwzględnione w analizach.

Publikacja P2 (2024 r.) przedstawia wyniki badań dotyczących analiz fitochemicznych i fitofarmakologicznych 75% metanolowego ekstraktu z owoców *Eleutherococcus divaricatus*. Na podstawie analizy metodą HPLC-DAD mgr farm. Jakub Gębalski zidentyfikował 3 związki wobec 14 wzorcowych, mianowicie eleuterozyd E (0,23 mg/g), kwas chlorogenowy (0,13 mg/g) oraz kwas protokatechowy (1,47 mg/g). Przechodząc do aktywności antyenzymatycznej, stwierdził, że ekstrakt wykazuje umiarkowaną aktywność wobec hialuronidazy z jąder bydlęcych (9,06–37,70%). Uzyskane wyniki potwierdziły znaczącą inhibicję hialuronidazy na poziomie 82,51% (wartość średnia dla grupy), wobec escyny zastosowanej jako kontrola, inhibicja 71,04% (wartość średnia dla grupy). Różnica w hamowaniu hialuronidazy w surowicy ludzkiej może wynikać ze zmienności osobniczej między pacjentami. Doktorant nie zauważył znacznej aktywności antytyrozynazowej ekstraktu (tyrozynaza grzybowa, 2,94–12,46%). Przeprowadzone badania wskazują na umiarkowane działanie antyoksydacyjne (IC₅₀ – ABTS 0,28 mg/mL, DPPH 1,30 mg/mL, chelatowanie Fe²⁺ 1,45 + mg/mL oraz rodnik O₂⁻ 1,51 mg/mL). Na podstawie analizy uzyskanych wyników badań wstępnych, szczególnie w przypadku inhibicji hialuronidazy obecnej w surowicy krwi, można z całą pewnością stwierdzić, że wyniki te uzasadniają tradycyjne stosowanie *E. divaricatus* w leczeniu chorób zapalnych oraz związanych

z układem odpornościowym. Hialuronidaza, enzym biorący udział w degradacji kwasu hialuronowego, odgrywa istotną rolę w procesach zapalnych i immunologicznych. Inhibicja tego enzymu przez ekstrakty z *E. divaricatus* wskazuje na potencjalne korzyści terapeutyczne tej rośliny w leczeniu schorzeń, w których hialuronidaza może odgrywać kluczową rolę

Publikacja P3 (2024 r.), powiązana z określeniem właściwości anty-hialuronidazowych oraz anty-tyrozynazowych korzenia *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu.

Wstępna analiza fitochemiczna frakcji octanu etylu, przeprowadzone z wykorzystaniem prostych reakcji chemicznych (TPC, TFC, TPAC), wykazała, że frakcja octanu etylu zawiera najwięcej polifenoli. Analiza chromatograficzna przy użyciu UHPLC DAD/ESI-TOF-MS potwierdziła obecność głównie kwasów fenolowych. Intensywny sygnał zaobserwowano dla jonów o m/z 353.08835 (191, 179); 515.12021 (353); 515.12048 (353) i 48 515.12035 (353), które pochodziły od kwasu chlorogenowego, kwasu 3,5 dikawoilochinowego, kwasu dikawoilochinowego i kwasu 4,5-dikawoilochinowego). Spośród czterech ekstraktów, które przygotowano stosując rozpuszczalniki różniące się polarnością, to ekstrakt 75% metanolowy najsilniej hamował enzym (mTYR = 274,37 µg/mL, bHYAL = 104,13 µg/mL). Następnie ekstrakt ten poddano frakcjonowaniu stosując ekstrakcję typu ciecz-ciecz. Analizując aktywność uzyskanych frakcji wobec tyrozynazy grzybowej oraz hialuronidazy ludzkiej, stwierdzono, że najwyższą aktywność miała frakcja octanowa (mTYR = 65,5 µg/mL, bHYAL = 27,5 µg/mL). Na podstawie analizy uzyskanych wyników badań, Doktorant wykazał, że frakcja octanu etylu hamuje hialuronidazę obecną w surowicy krwi pacjentów onkologicznych przed leczeniem (płeć: męska, wiek: 3, 4, 4, 5, 17 lat, zdiagnozowana ostra białaczka limfoblastyczna) na poziomie 55,82% (wartość średnia dla grupy) w porównaniu do kontroli, escyny 63,8% (wartość średnia dla grupy). W analizowanym modelu enzymatycznym mgr fam. Jakub Gębalski podjął również próbę określenia wpływu tej frakcji na aktywność tyrozynazy w surowicy krwi dzieci i nie odnotował inhibicji. Równoległe określił cytotoksyczny wpływ frakcji na 3 linie komórek czerniaka (UACC – 647, A375, SK-MEL-30), także nie odnotował cytotoksycznego wpływu na te linie. W kolejnym etapie sprawdzał, czy frakcja octanu etylu może działać synergistycznie w kombinacji frakcja octanu etylu – doksorubicyna. Tym razem stwierdzono niezwykle ciekawą interakcję, otóż frakcja zmniejszała działanie doksorubicyny, co może wskazywać na jej protekcyjny efekt na komórki czerniaka. Obniżenie skuteczności działania doksorubicyny w obecności frakcji octanu etylu zauważono na trzech badanych liniach czerniaka. Jest to bardzo ważne odkrycie, które częściowo przeczy, wbrew przyjętym ustaleniom, że surowce adaptogenne/immunostymulacyjne powinno się stosować w trakcie leczenia onkologicznego. Uzyskane wyniki potwierdzają skuteczność stosowania *E. divaricatus* w tradycyjnej medycynie chińskiej (TCM) w leczeniu chorób zapalnych i immunologicznych. Niemniej jednak, w świetle dotychczasowych badań, należy zachować ostrożność przy jednoczesnym stosowaniu tej rośliny i chemioterapii. Zaleca się stosowanie *E. divaricatus* przed rozpoczęciem lub po zakończeniu leczenia onkologicznego, aby wzmocnić organizm i wspomóc jego regenerację. Wyniki te są również zgodne z założeniami radzieckich naukowców z lat 70. i 80. XX wieku, którzy ostrzegali przed łączeniem adaptogenów z grupy *Eleutherococcus* z leczeniem onkologicznym. Podkreślali oni, że takie połączenie może wpływać na skuteczność terapii przeciwnowotworowej. Jednakże, aby w pełni zrozumieć mechanizmy działania *E. divaricatus* i jego interakcje z chemioterapią, konieczne są bardziej szczegółowe badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych. Takie badania pozwolą na dokładniejsze określenie bezpieczeństwa i skuteczności stosowania tej rośliny w kontekście

leczenia onkologicznego.

Przedłożone do recenzji prace naukowe nie mogą budzić zastrzeżeń, wyniki tych eksperymentów i sposób ich przedstawienia podlegały wcześniejszej ocenie specjalistów, recenzentów i wydawców więc pominięto to w recenzji.

Jednoznacznie stwierdzam, że zaprezentowane w tej dysertacji wyniki badań są bardzo wartościowe i mogą przyczynić się do opracowania nowych, skuteczniejszych preparatów dermatologicznych, które będą mogły być stosowane w leczeniu różnych schorzeń skórnych

Jednak z obowiązku recenzenta, biorąc pod uwagę całość opracowania, pozwalam sobie wskazać na kwestie zauważone w trakcie czytania tekstu.

1. Jakie modele badawcze można wykorzystać w celu określenia potencjalnego wpływu badanego ekstraktu z *E. divaricatus* na skuteczność chemioterapii?
2. Czy można określić potencjalne interakcje pomiędzy frakcją octanu etylu a doksorubicyną, której aktywność została obniżona w obecności frakcji?

Po zapoznaniu się z ocenianą pracą doktorską mogę stwierdzić, że mgr farm. Jakub Gębalski posiadał niezbędną znajomość warsztatu metodycznego i pracy w laboratorium. Wykazał się również wysoką umiejętnością analizowania i interpretacji wyników swoich badań o czym świadczą przedstawione do oceny artykuły naukowe. Są, one obszerne, dobrze napisane, poparte właściwie dobraną aktualną literaturą. Wpisują się w aktualny światowy nurt badań nad roślinami leczniczymi. Przedstawiona do recenzji praca stanowi wartościowe, oryginalne opracowanie naukowe, gdyż została zrealizowana przy pomocy dobrze dobranych technik badawczych, co pozwoliło na uzyskanie wartościowych i wiarygodnych wyników. Otrzymane wyniki pracy mają dużą wartość poznawczą i wnoszą, oryginalny wkład do rozwoju wiedzy z zakresu produkcji nowoczesnych leków pochodzenia naturalnego, bardzo dobrze wpisują się w obecny nurt badań nad wykorzystaniem ekstraktów roślinnych i składnikami o podwyższonych wartościach prozdrowotnych.

3. Dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny

W zaprezentowanym przez mgr farm. Jakuba Gębalskiego opracowaniu (punkt 1) Doktorant przedstawił własny dorobek naukowy, tj. wykształcenie, przebieg zatrudnienia, współautorstwo publikacji (łącznie z rozprawą doktorską):

Prace w języku angielskim 12

Prace w języku polskim 1

Publikacje jako pierwszy autor 4

Sumaryczny IF 58,266

Sumaryczna punktacja MEiN 1545

Cytowania* Hirsh index* Web of Science 301 Web of Science 5 Scopus 346 Scopus 6
Google Scholar 497 Google Scholar 6.

Znajduje się też w tej części spis Konferencji, na których Doktorant prezentował wyniki badań w formie posterów i prezentacji ustnych.

Wykaz doniesień konferencyjnych (3):

- Tyrosinase and hyaluronidase inhibitors in *Eleutherococcus divaricatus*, International Congress on Natural Products Research, Kraków, 13-17.07.2024 - poster]
- Inhibitory tyrozynazy i hialuronidazy w gatunkach *Eleutherococcus*, during the XXIV Congress of the Polish Pharmaceutical Society, Lublin, 22-24.09.2021- poster
- Inhibitory tyrozynazy i hialuronidazy w gatunkach *Araliaceae*, during the National Scientific Conference, Natural medicinal and cosmetic raw materials, Lublin, 15-16.11.2022 – prezentacja ustna

Udział w badaniach prezentowanych na konferencjach (4):

- Extracts from the roots of *Scutellaria baicalensis* reduce honeybee death caused by nosemosis, International Congress on Natural Products Research, Kraków, 13-17.07.2024 – poster
- Analiza składu chemicznego i właściwości biologicznych wybranych roślin adaptogennych Afryki, Azji i Ameryki Południowej, XV Interdisciplinary Scientific Conference TYGIEL 2023, Lublin/online, 23-26.03.2023 r. – prezentacja ustna
- Właściwości przeciwstarzeniowe wybranych gatunków z rodziny *Araliaceae*, National Scientific and Training Conference entitled 'Cosmetology in a holistic approach', Lublin, 20-21.04.2023 r. – poster
 - *Salvia apiana* in vitro shoot system as a source of volatile fraction with acetylcholinesterase inhibitory potential, Trends in Natural Products Research: A Young Scientists' Meeting, 23-26.05.2022, Kolymbari, Grecja – prezentacja ustna

Mgr farm. Jakub Gębalski podnosił swoje kwalifikacje zawodowe odbywając 3 staże:

- w firmie biotechnologicznej Boruta-Zachem Biochemia, Bydgoszcz, 01-31.09.2018 r. (staż naukowy)
- w szpitalu Nemocnice Milosrdných sester sv. Karla Boromejského v Praze, 01-12.07.2018 r.
- w szpitalu Orthopedic hospital "Banjicia", Belgrade, 01-30.07.2017 r

oraz kursy i szkolenia:

- 2023 r. – kurs uprawniający do uczestnictwa w procedurach na zwierzętach, Wydział Farmaceutyczny, CM UMK,
- 2023 r. – udział w kursie „Pozyskiwanie środków na badania, pisanie grantów międzynarodowych z sukcesem” realizowanych przez Poznański Park Naukowo Technologiczny (PPNT) z siedzibą w Poznaniu, NAWA
- 2023 r. – szkolenie z obsługi aparatury do denzytometrii, CAMAG
- 2022 r. – kurs ze statystyki podstawowej, eTrapez

Do działalności naukowej Kandydata należy zaliczyć także:

- a) udział w organizacji konferencji naukowych:
 - Komitet Organizacyjny Ogólnopolskiej Konferencji Opieka nad pacjentem onkologicznym wyzwaniem dla lekarzy i farmaceutów, Bydgoszcz, 18-20.05.2018 r.
 - Komitet Pomocniczy XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów „Mikrobiologia - nowe wyzwania, nowe możliwości”, Bydgoszcz, 25-27.09.2016 r. 1.6.
- b) kierownictwo grantów badawczych:

- pt. AralDiab - new multifunctional compounds in the treatment and prevention of diabetes in the genus *Aralia* Grants4NCUStudents – Inicjatywa Doskonałości Uczelnia Badawcza,
 - pt. The search for new plant-based hyaluronidase inhibitors (2 edycja),
 - pt. The search for new plant-based tyrosinase inhibitors (3 edycja),
 - pt. PolyBaic – in a direction of the new baicalein polymers (5 edycja),
 - pt. The search for new plants in treatment civilization diseases (6 edycja),
 - pt. Effect of fruits with adaptogenic properties from Polish crops on inflammation in neurodegenerative diseases (7 edycja),
 - pt. Study of the anti-inflammatory properties of selected species from the *Aralia* genus (8 edycja)
- c) udział w projektach badawczych
- realizacja projektu Biotransformacja i rafinacja kaskadowa śruty oleistej w celu uzyskania surfaktyny, polimerów i komponentów paszowych w firmie biotechnologicznej InventionBio sp. z o.o., Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, Sektorowe programy B+R - INNOCHEM
- Debiuty – Inicjatywa Doskonałości Uczelni Badawczej
- The significance of *Rhizophagus irregularis* in the production of phenolic compounds and modulating the immunostimulating activity of the aerial parts of *Echinacea purpurea* (L.) Moench
 - Spectroscopic analysis of medicinal plants: *Eleutherococcus senticosus* and *Scutellaria baicalensis* - a pilot study
- d) zgłoszenia patentowe
- Alkoholowy ekstrakt etanolowy ze świeżego liofilizowanego korzenia *Scutellaria baicalensis* do zastosowania w preparatach zwiększających odporność pszczół i 17 zwalczających nosemożę, dr hab. Ptaszyńska A. prof. UMCS, dr hab. Załuski D. prof. UMK, mgr Gębalski J. Polski Urząd Patentowy, 2024,
 - Alkoholowy ekstrakt etanolowy z suszonego napowietrznie korzenia *Scutellaria baicalensis* do zastosowania w preparatach zwiększających odporność pszczół i zwalczających nosemożę, dr hab. Ptaszyńska A. prof. UMCS, dr hab. Załuski D. prof. UMK, mgr Gębalski J. Polski Urząd Patentowy, 2024.

Kandydat był także recenzentem w wielu artykułów w czasopismach naukowych m.ni. dla Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, International Journal of Molecular Sciences, Molecules, Plants.

Poza tym za swoją działalność naukowo-badawczą mgr farm. Jakub Gębalski uzyskał szereg nagród:

- Nagroda Zespołowa trzeciego stopnia Rektora UMK za działalność naukowo badawczą, 2024
- Nagroda Rektora za wysoko punktowane publikacje: o „Evaluation of the yield, chemical composition and biological properties of essential oil from bioreactor-grown cultures of *Salvia apiana* microshoots”, 2023 o „The Influence of Polyphenol Compounds on Human Gastrointestinal Tract Microbiota”, 2020 o „Human Milk Oligosaccharides: Korzyści zdrowotne, potencjalne zastosowania w preparatach dla

- niemowląt i farmakologia”, 2020 Nagroda dla najlepszego koła naukowego na Wydziale Farmaceutycznym, Studenckie Towarzystwo Naukowe, 2022/23
- Nagroda za działalność naukowo-badawczą w toku studiów farmaceutycznych, Bydgoszcz, 2019
 - Nagroda za uzyskanie bardzo dobrych wyników w nauce podczas studiów farmaceutycznych, 2019
 - Tytuł Najlepszego Studenta Wydziału Farmaceutycznego CM UMK w roku akademickim 2016/17 oraz 2017/18
 - II miejsce w wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich, CM UMK, 2018
 - II miejsce w Ogólnopolskim Konkursie Umiejętności Klinicznych (OKUK), Gdańsk, 2017 I miejsce w Konkursie Receptury Aptecznej (KRA), Warszawa, 2016

Prowadzi zajęcia dydaktyczne z farmakognozji, farmakologii ogólnej oraz toksykologii oraz prawa farmaceutycznego.

W ramach innej działalności, dydaktycznej i organizacyjnej mgr farm. Jakub Gębalski sprawował opiekę nad 4 pracami magisterskimi, 4 projektami Studenckiego Koła Naukowego Farmakognozji oraz opiekę nad studentami uczestniczącymi w programie Erasmus.

Przedstawione powyżej dane, wskazują, że mgr farm. Jakub Gębalski jest obiecującym młodym naukowcem, który chętnie publikuje, prezentuje wyniki badań na Konferencjach oraz uczestniczy w kształceniu studentów.

4. Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowując recenzję chciałabym podkreślić, że wymienione powyżej uwagi o charakterze dyskusyjnym nie mają wpływu na wysoką ocenę niniejszej rozprawy doktorskiej. Według mnie całokształt dorobku tj. liczba publikacji, udział w Konferencjach oraz szkoleniach oraz przedstawiona do oceny dysertacja spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim.

Stwierdzam jednoznacznie, że w mojej ocenie rozprawa Pana mgr farm. Jakuba Gębalskiego spełnia wymogi określone w stosownych przepisach Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ.U. Nr 65, poz.595, z p6z.zm) w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669). W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, o dopuszczenie Pana mgr. farm. Jakuba Gębalskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

