

UNIwersytet Medyczny
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOGNOZJI I BIOMATERIAŁÓW

ul. Rokietnicka 3, 60-781 Poznań
tel. (0-61) 641-83-97



prof. dr hab. Judyta Cielecka-Piontek
jpiontek@ump.edu.pl

Poznań, 1.12.2024 r

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Gębalskiego

zatytułowanej

„ROŚLINNE INHIBITORY HIALURONIDAZ I TYROZYNAZY –
ASPEKT CHEMICZNY I FARMAKOLOGICZNY ORAZ
IMPLEMENTACJE PRZEMYSŁOWE”

wykonanej

pod kierunkiem dr hab. Daniela Załuskiego, prof. UMK

w Katedrze Botaniki Farmaceutycznej i Farmakognozji na Wydziale Farmaceutycznym
Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

Zaprezentowana do oceny praca doktorska pt.: „ROŚLINNE INHIBITORY HIALURONIDAZ I TYROZYNAZY – ASPEKT CHEMICZNY I FARMAKOLOGICZNY ORAZ IMPLEMENTACJE PRZEMYSŁOWE” jest odpowiedzią na zapotrzebowanie aplikacyjne w obszarze poszukiwania surowców roślinnych istotnych dla rozwiązań przemysłowych dedykowanych rozwojowi produktów o działaniu jako inhibitory hialuronidazy i tyrozyminy wykazujących aktywność przeciwzapalną i immunomodulującą. Na wstępie chciałam zaznaczyć, że praca została przygotowana w ramach realizacji programów *The search for new plant-based tyrosinase inhibitors*, Grants4NCUStudents oraz *The search for new plant-based hyaluronidase inhibitors*, Grants4NCUStudents w ramach programu

Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza, UMK, dedykowanych uczestnikom Szkoły Doktorskiej.

Warto także w tym miejscu zaznaczyć, że Kandydat do stopnia doktora realizował inne projekty w ramach Inicjatywy Doskonałości Uczelni Badawczej, z sukcesem zakończone publikacjami prezentującymi otrzymane wyniki oraz wystąpieniami na konferencjach naukowych. Dorobek Pana mgr. Jakuba Gębalskiego jest imponujący, mając na uwadze etap kariery naukowej. Z pewnością jest to także wpływ aktywności i opieki naukowej Promotora pana dr. hab. Profesora Daniela Załuskiego.

Tematyka badawcza zaprezentowana w niniejszej pracy doktorskiej wpisuje się w nurt poszukiwań efektywnych inhibitorów hialuronidaz oraz tyrozynaz, których potrzebują medycyna, przemysł farmaceutyczny, kosmetyczny oraz spożywczy. Zaprezentowane podejście zastosowania kwiatów i korzenia *Eleutherococcus divaricatus* jako aktywnych inhibitorów hialuronidazy i tyrozynazy celem przeprowadzenia screeningu wielokierunkowego działania biologicznego jest w pełni uzasadnione a otrzymane wyniki wskazują na właściwie przyjęte założenia wyboru odpowiedniego surowca roślinnego, zdefiniowania poprawnej hipotezy badawczej oraz przeprowadzenia procesu badawczego i wyboru odpowiednich metod analitycznych oraz modelu do oceny działania aktywności biologicznej.

Przedstawione do oceny opracowanie zawiera: wykaz osiągnięć Doktoranta, część teoretyczną obejmującą wstęp, część literaturową, precyzyjne identyfikowane cele pracy, uzasadnienie podjęcia tematyki badań, opis metodyki oraz prezentację wyników i ich dyskusję z podsumowaniem i wnioskami oraz opisem otrzymanych wyników na rozwój nauki, możliwości aplikacyjne oraz perspektywy dalszych badań. Uzupełnieniem do opracowania jest streszczenie w języku polskim i języku angielskim oraz spis stosowanych rycin. Jako załączniki opracowania zostały także zestawione tabele, ilustracje oraz bibliografia.

W części teoretycznej Doktorant prezentuje przykłady leków pochodzących z roślin, charakterystykę botaniczną *Eleutherococcus divaricatus* oraz profil fitochemiczny i fitofarmakologiczny badanego surowca roślinnego. Znaczną część zajmuje także prezentacja wiedzy na temat znaczenia hialuronidazy i tyrozynazy oraz zmian jakie pojawiają się w organizmach w efekcie ekspresji lub hamowania tych enzymów. Bardzo zasadne było

umieszczenie przez Doktoranta rozdziału na temat powodów podjęciach takiej tematyki badawczej.

Cele pracy zostały zaprezentowane w sposób jasny i logiczny, poprzez potrzebę identyfikacji inhibitorów hialuronidazy oraz tyrozynazy obecnych w *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y.Hu oraz określenie ich cytotoksyczności wobec wybranych linii komórkowych czerniaka i właściwości antyoksydacyjnych. Bardzo ważną implikacją dla przeprowadzonych badań była ocena bezpieczeństwa przyjmowania badanego adaptogenu przez osoby leczone jednocześnie doksorubicyną, z wykorzystaniem modelowych linii czerniaka.

Uzyskane wyniki prowadzonych analiz i prac badawczych zostały zaprezentowane w trzech publikacjach: jednej przeglądowej i dwóch eksperymentalnych. Na podstawie przeprowadzonych analiz oświadczeń współautorów o wkładzie Doktoranta w zakresie podstawowych badań można bezapelacyjnie wskazać na jego znaczący wkład w powstanie niniejszego opracowania.

W pierwszej z prac cyklu, w studium literaturowym pt. „*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, Autorzy przeprowadzili charakterystykę naturalnych oraz półsyntetycznych inhibitorów hialuronidazy oraz tyrozynazy, celem zdefiniowania korelacji pomiędzy aktywnością a chemiczną budową związków roślinnych w oparciu o dane z baz: ScienceDirect, PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar i ClinicalTrials z okresu pomiędzy 1990 r. i grudniem 2021 r. Jako zmienne dla prowadzonych analiz zostały zastosowane roślinne metabolity wyspecjalizowane z grupy polifenoli, alkaloidów oraz związków izoprenolowych. Praca stanowi bardzo dobre studium do dalszych badań prowadzonych przez Autorów, ale także jest rzetelnym kompendium wiedzy dla innych badaczy.

Pierwsza z prac eksperymentalnych pt. *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, traktuje o aktywności związków o budowie polifenolowej obecnych w owocach *Eleutherococcus divaricatus* w odniesieniu do możliwości hamowania tyrozynazy i hialuronidazy. Analiza chromatograficzna składu badanego ekstraktu pozwoliła wskazać jakie związki warunkują działanie biologiczne owoców, także w odniesieniu do aktywności przeciwutleniającej. Bardzo istotnym obszarem badań była ocena hamowania hialuronidazy wobec materiału biologicznego – krwi pacjentów onkologicznych (dzieci ze zdiagnozowaną ostrą białaczką limfoblastyczną, mediana wieku 7 lat). Uzyskane wyniki

pozwołyły Autorom potwierdzić zasadność tradycyjnego stosowania *E. divaricatus* w leczeniu chorób zapalnych oraz związanych z niewłaściwym funkcjonowaniem układu odpornościowego.

Celem drugiej pracy oryginalnej pt. *Ethyl acetate fraction from Eleutherococcus divaricatus root extract as a promising source of compounds with antihyaluronidase, anti-tyrosinase, and antioxidant activity but not anti-melanoma activity. Molecules. 2024; 29(15):3640*, była ocena tożsamości oraz wyznaczenie profili działania ekstraktu otrzymywanego z korzenia badanego surowca. Analiza składu ekstraktu metanolowego, przeprowadzana przez Autorów prostymi metodami analitycznymi, jak i bardzo zaawansowanymi (m.in. przy użyciu UHPLC/DAD/ESI-TOF-MS) pozwoliła wskazać jakie związki aktywne determinują inhibicję hialuronidazy. Podczas prowadzonych równolegle badań cytotoxyczości ekstraktu z korzenia na linii komórek czerniaka (UACC – 647, A375, SK-MEL-30), nie odnotowano działania cytotoxycznego. Co jednak ciekawe, oznaczono interakcję pomiędzy ekstraktem octanu etylu badanego surowca a doksorubicyną. Wyniki otrzymane w ramach niniejszej pracy wskazują na konieczność odstawienia lub niełączenia adaptogenów z cytostatykami. Otrzymany wniosek ma niezwykle znaczenie praktyczne w kontekście bezpieczeństwa farmakoterapii chorób nowotworowych. Zaprezentowana, słuszna hipoteza badawcza ograniczenia stosowania adaptogenów, na przykładzie badanego surowca, podczas fazy aktywnej chemioterapii stanowi bardzo ważne odkrycie dla efektywności leczenia onkologicznego, ale także bezpieczeństwa w tym obszarze.

Przedstawiona dyskusja otrzymanych wyników oraz zaprezentowane hipotezy badawcze dowodzą dojrzałości Doktoranta oraz są mocnymi argumentami w stwierdzeniu, że należy zaliczyć Doktoranta do grupy ekspertów w zakresie badań nad fitochemią oraz oceną aktywności biologicznej adaptogenów, także w odniesieniu do przewidywania interakcji lekowych z innymi związkami stosowanymi równocześnie u wybranych grup pacjentów.

W odniesieniu do wybranych treści poproszę o odniesienie się Doktoranta do kwestii:

- Jakie były wstępne kryteria wyboru surowca roślinnego do badań?
- W oparciu o aktualne wytyczne farmakopealne w krajach europejskich i pozaeuropejskich jakie są formalne wytyczne dotyczące badań fitochemicznych badanego surowca?
- Jak powinna wyglądać kontrola jakości surowców adaptogennych importowanych, które nie zostały wpisane na listę surowców farmakopealnych? Jak wyglądają

procedury możliwości ich rejestracji w standardzie „nowel food” lub innych procedur dopuszczających surowce do obrotu i stosowania u ludzi lub zwierząt?

Podsumowując, przedłożona do oceny rozprawa doktorka mgr Jakub Gębalskiego odpowiada wszystkim wymaganiom stawianym tego typu opracowaniom na stopień doktora nauk farmaceutycznych. Tym samym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy o dopuszczenie Pan mgr. Jakuba Gębalskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zwracam się też z wnioskiem o wyróżnienie niniejszego doktoratu, mając na uwadze jakość merytoryczną oraz aplikacyjny charakter otrzymanych wyników oraz znaczącą aktywność naukową Doktoranta.

Judyta Cielecka-Piontek