

DANIEL ZAŁUSKI

**AUTOREFERAT PRZEDSTAWIAJĄCY OPIS
DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH**

KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOGNOZJI

WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA

W TORUNIU

COLLEGIUM MEDICUM

im. LUDWIKA RYDYGIERA w BYDGOSZCZY

BYDGOSZCZ 2018



W trakcie prowadzenia badań, w ramach programu Erasmus+, Autor odbył staż szkoleniowy w Leiden University, Holandia



Badania przedwdrożeniowe były finansowane w ramach programów Inkubator Innowacyjności +; MNiSW



W trakcie prowadzenia badań, Autor był stypendystą Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, SKILLS-Mentoring



Część badań jest finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, w ramach programu Miniatura-1, oraz funduszy unijnych.



SPIS TREŚCI

1. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	4
2. Informacje o zatrudnieniach w jednostkach naukowych.....	4
3. Osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 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 ze zm.).....	5
3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	5
3.2. Wprowadzenie w tematykę badań, cel naukowo-badawczy i streszczenia prac stanowiących podstawę habilitacji.....	7
3.2.1. Wprowadzenie.....	7
3.2.2. Cel naukowo-badawczy.....	12
3.2.3. Omówienie wyników stanowiących podstawę habilitacji.....	13
3.2.4. Podsumowanie wyników badań stanowiących podstawę habilitacji.....	26
4. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze.....	28
4.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych.....	28
4.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych, inne niż stanowiące podstawę habilitacji.....	31
4.3. Dalsze plany naukowo-badawcze.....	35
4.4. Pozostałe publikacje.....	36
4.5. Konferencje krajowe i międzynarodowe.....	39
4.6. Kierowanie krajowymi projektami naukowymi i udział w projektach.....	41
4.7. Staże, wyjazdy zagraniczne.....	42
4.8. Recenzje projektów badawczych, panele eksperckie.....	42
4.9. Wyróżnienia i nagrody wynikające z prowadzenia badań naukowych.....	43
4.10. Udział w kursach i szkoleniach.....	43
4.11. Współpraca naukowa.....	44
4.12. Patenty i transfer wiedzy z organizacji naukowo-badawczych do przedsiębiorstw.....	45
4.13. Udzielone recenzje w czasopismach międzynarodowych.....	45
4.14. Recenzowanie rozpraw doktorskich i udział w komisjach egzaminacyjnych.....	46
4.15. Członkostwo w radach naukowych czasopism.....	46
4.16. Członkostwo w Komitecie naukowym konferencji.....	46
5. Inne funkcje.....	46
6. Działalność dydaktyczna i organizacyjna.....	46
7. Bibliometryczne podsumowanie osiągnięć naukowych.....	48

1. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

* **27.06.2007** - tytuł zawodowy magistra biologii (specjalizacja - biochemia), Uniwersytet Marie Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Praca magisterska wykonana w Zakładzie Biochemii. Tytuł pracy magisterskiej: "Optymalizacja immobilizacji amikacyny do alginianu wapnia"; Promotor: Prof. dr hab. Jerzy Rogalski

* **2007/2008** - Chemia kosmetyczna, Studia podyplomowe, Politechnika Warszawska, Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia, Warszawa. Tytuł pracy dyplomowej: "Wybrane biochemiczne procesy fotostarzenia".

* **26.05.2011** - stopień doktora nauk farmaceutycznych, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie. Tytuł pracy: "Ocena składu chemicznego i właściwości biologicznych wybranych gatunków roślin z rodzaju *Eleutherococcus* Maxim."; Promotor: Prof. dr hab. Helena D. Smolarz. Praca została wyróżniona przez Radę Wydziału.

Recenzenci: Prof. dr hab. Grażyna Ginalska (Katedra i Zakład Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny, Lublin); Prof. dr hab. Irena Malinowska (Zakład Chromatografii Planarnej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin).

2. Informacje o zatrudnieniu w jednostkach naukowych

* **II.2008-IX.2011** - Asystent w Katedrze i Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny, Lublin.

* **X.2011-IX.2012** - Asystent w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.

* **X.2012-IX.2016** - Adiunkt w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.

* **X.2012-IX.2016** - Adiunkt, Wydział Ochrony Zdrowia, Almamater Szkoła Wyższa, Warszawa.

* **Od X.2016** - Adiunkt, p.o. kierownik w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum, Bydgoszcz, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

3. Osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 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 ze zm.)

3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

Metabolity pierwotne i wtórne w gatunkach *Eleutherococcus* uprawianych w Polsce – aspekt fitochemiczny i nutrifikologiczny

Podstawę habilitacji stanowi cykl 8 publikacji, w tym 7 oryginalnych i 1 rozdział w książce międzynarodowej, opublikowanych w latach 2015-2018. Łączny:

- współczynnik oddziaływania (IF) wymienionych prac wynosi 21.53,

- łączna punktacja MNiSW wynosi: 180.

Wykaz publikacji stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej:

H-1: Załuski D., Cieśla Ł., Janeczko Z., “The Structure-Activity Relationships of Plant Secondary Metabolites with Antimicrobial, Free Radical Scavenging and Inhibitory Activity towards Selected Enzymes” w „Studies in Natural Product Chemistry (*Bioactive Natural Products*)”. Edytor Prof. Atta-ur Rahman; Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Holandia. 45, 2015, 217-249. **MNiSW: 5 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu literatury, zredagowaniu pracy, opracowaniu części graficznej, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 75%.

H-2: Załuski D., Janeczko Z., Variation in phytochemicals and bioactivity of the fruits of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland, Natural Product Research, 2015; 29(23), 2207-11. **IF 1.057, MNiSW: 20 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń, analizie wyników, zredagowaniu pracy, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 90%.

H-3: Załuski D., Olech M., Galanty A., Verpoorte R., Kuźniewski R., Nowak R., Bogucka-Kocka A., Phytochemical content and pharma-nutrition study on *Eleutherococcus senticosus* fruits intractum. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016; 1-10. **IF 4.593, MNiSW: 30 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu części doświadczeń (przygotowanie intraktu, całkowita zawartość polifenoli i flawonoidów, aktywność antyoksydacyjna, test DB-HPTLC, inhibicja Hyal, AAS) analizie wyników, zredagowaniu pracy, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 65%.

H-4: Załuski D., Mendyk E., Smolarz H.D., Identification of the MMP-1 and MMP-9 inhibitors from the roots of *Eleutherococcus divaricatus*, and the PAMPA test. Natural Product Research, 2016; 30(5), 595-599. **IF 1.828, MNiSW: 20 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń (inhibicja MMPs, izolacja związków czynnych, test PAMPA i rozpuszczalność kinetyczna), analizie wyników, zredagowaniu pracy i przygotowaniu do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 80%.

H-5: Załuski D., Kuźniewski R., In Vitro Anti-AChE, Anti-BuChE, and antioxidant activity of 12 extracts of *Eleutherococcus* species. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016; 1-7. **IF 4.593, MNiSW: 30 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń, analizie wyników, zredagowaniu pracy, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 90%.

H-6: Załuski D., Kuźniewski R., Janeczko Z., HPTLC-profiling of eleutherosides, mechanism of antioxidative action of eleutheroside E1, the PAMPA test with LC/MS detection and the structure–activity relationship. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018; 25, 520-528. **IF 2.564, MNiSW: 25 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń, analizie wyników, zredagowaniu pracy, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 80%.

H-7: Załuski D., Olech M., Kuźniewski R., Verpoorte R., Nowak R., Smolarz H.D., LC-ESI-MS/MS profiling of phenolics from *Eleutherococcus* spp. inflorescences, structure-activity relationship as antioxidants, inhibitors of hyaluronidase and acetylcholinesterase. Saudi Pharmaceutical Journal, 2017; 25, 734-743. **IF 2.302, MNiSW: 20 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń (inhibicja Hyal i AChE, aktywność antyoksydacyjna, SARs), zredagowaniu pracy, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 70%.

H-8: Załuski D., Olech M., Verpoorte R., Khan I., Kuźniewski R., Nowak R., Phytoconstituents and nutritional properties of the fruits of *Eleutherococcus divaricatus* and *Eleutherococcus sessiliflorus* - a study of non-European species cultivated in Poland. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017; 1-10. **IF 4.593, MNiSW: 30 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń (zawartość flawonoidów, polifenoli, kwasów tłuszczowych, mineralów), zredagowaniu pracy, przygotowaniu do druku i wykonaniu korekty do druku (autor do korespondencji). Mój udział procentowy szacuję na 60%.

3.2. Wprowadzenie w tematykę badań, cel naukowo-badawczy i streszczenia prac stanowiących podstawę habilitacji

3.2.1. Wprowadzenie

Rośliny są źródłem substancji o właściwościach leczniczych i odżywczych. Sugeruje się, że około 80% światowej populacji stosuje rośliny w systemach podstawowej opieki medycznej. Ponad 120 związków pochodzenia roślinnego i ich półsyntetyczne pochodne są stosowane w leczeniu.^{1,2,3}

Obecne badania fitochemiczne skupiają się na poszukiwaniu nowych związków biologicznie czynnych pochodzenia naturalnego, które działałyby skutecznie jak związki syntetyczne, dając mniej działań niepożądanych. Związki te należą do grupy kwasów fenolowych, kwasów triterpenowych, flawonoidów, kumaryn, lignanów, alkaloidów oraz steroli. Przedstawiciele tych grup wykazują działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwgrzybiczne, immunomodulujące, antyoksydacyjne, hamują aktywność enzymów hydrolitycznych (esteraz, hialuronidaz, metaloproteinaz).^{4,5}

Duże nadzieje wiąże się ze związkami, których struktury zostały zidentyfikowane w gatunkach rodzaju *Eleutherococcus* Maxim. Rodzaj *Eleutherococcus* skupia około 38 gatunków, z czego 18 należy do flory Chin. Obszar występowania obejmuje północno-wschodnie tereny Rosji, Chiny, Koreę i Japonię.⁶

Badania fitochemiczne wykazały dużą różnorodność związków w obrębie metabolitów wtórnych, określonych wspólną nazwą jako eleuterozydy. Eleuterozydy należą

¹ A.A. Salim, Y.W. Chin, A.D. Kinghorn, Springer 1-24, 2008.

² T. Dhanani, S. Shah, N.A., Gajbhiye, S. Kumar, Arab. J. Chem. (in press), 2013.

³ R. Verpoorte, J. Pharm. Pharmacol. 52, 253-262, 2000.

⁴ D.H. Watson, Performance functional foods-Woodhead Publishing in Food Science and Technology, Cambridge, 2003.

⁵ R. Verpoorte, Y.H. Choi, H.K. Kim, Phytochem. Rev. 6, 3-14, 2007.

⁶ D.R. Gang, The biological activity of phytochemicals. Springer, 2011.

do glikozydów fenolowych i saponinowych, lignanów i kumaryn. Wśród nich oznaczono eleuterozyd B (glikozyd fenylopropanu), eleuterozyd B4, E, E1, E2, D (glikozydy sezaminy i syryngarezynolu), eleuterozyd B1 (glikozyd izofraksydyny), eleuterozydy I, K, L, M (glikozydy kwasu oleanolowego), eleuterozyd A (glikozyd β -sitosterolu). Według Farmakopei Polskiej X i Europejskiej VIII korzeń *E. senticosus* powinien zawierać łącznie nie mniej niż 0.08 % sumy eleuterozydów B i E. Eleuterozydy są głównie kumulowane w korzeniach, ich występowanie stwierdzono w liściach i owocach.^{7,8,9,10}

Kolejną grupą związków są eleuterany (kompleksy cukrowe składające się od 4 do 6 cukrów prostych), ciwujianozydy (estrowe pochodne kwasu oleanolowego i noroleanolowego), olejek eteryczny, polisacharydy, kwasy fenolowe i flawonoidy.^{11,12,13}

Ze względu na zróżnicowany skład chemiczny, rośliny te mają wielokierunkową aktywność biologiczną. Aktualny stan wiedzy odnosi się do badań nad jednym gatunkiem, uznanej rośliny adaptogennej, *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., którego właściwości lecznicze są porównywane do właściwości *Panax ginseng* (C.A. Meyer). Według chińskich źródeł historycznych, korzeń *E. senticosus* stosowany był od 4000 lat w celu zapobiegania przeziębieniu i grypie, zwiększenia odporności na stres, w bezsenności, w celu poprawy funkcjonowania śledziony, nerek, a także przywrócenia vitalności i energii. Korzeń *E. senticosus*, podobnie jak *Panax ginseng*, *Schizandra chinensis* (Turcz. Baill) i *Aralia mandshurica* (Rupr. et Maxim.) Maxim., jest uznanym surowcem o działaniu adaptogennym, czyli wpływającym na wzrost odporności organizmu na stres, wywołany czynnikami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi.^{14,15,16}

Komisja Europejska decyzją z dnia 9 grudnia 2009 r. włączyła *E. senticosus* do wykazu substancji roślinnych, przetworów roślinnych i ich zestawień do użytku w tradycyjnych roślinnych produktach leczniczych. Produkty zawierające *E. senticosus* od kilku lat są popularne w Stanach Zjednoczonych, ich wartość rynkową szacuje się na 12 bilionów dolarów. W 1994 roku Dietary Supplement Health Education Act (DSHEA)

⁷ D. Załuski, H.D. Smolarz, U. Gawlik-Dziki, Nat. Prod. Comm. 7, 1483-1486, 2012.

⁸ D. Załuski, E. Mendyk, H.D. Smolarz, Nat. Prod. Res.30, 595-599, 2016.

⁹ J.M. Lee, G.D. Lee, J. Kim, S. Lee, Asian J. Chem. 26, 3511-3514, 2014.

¹⁰ M. Chen, F. Song, M. Guo, Z. Liu, A. Liu, Rapid Comm.in Mass Spectrom. 16, 264-271, 2002.

¹¹ H. Hikino, M. Takahashi, K. Otake, Ch. Konno, J. Nat. Prod. 49(2), 293-297, 1986.

¹² Y.S. Ovodov, V.I. Shibaeva, Khim. Prir. Soed. 5(6), 589-590, 1969.

¹³ Ch.J. Shao, R. Kasai, J.D. Xu, O. Tanaka, Chem. Pharm. Bull. 37 (1), 42-5, 1989.

¹⁴ J. Yang, S. Zhao, Ch. Yu, and Ch. Li, Scient. World J. 1-8, 2013.

¹⁵ A. Panossian, G. Wikman, and H. Wagner, Phytomed. 6, 297-300, 1999.

¹⁶ W. Jin, F. Wu, X. Li, H. Li, Ch. Du, Q. Jiang, J. You, S. Li, and Y. Xu, Phytother. Res. 27, 1829-1833, 2013.

dopuszcza bezpośrednią komercjalizację suplementów zawierających *E. senticosus* w USA, bez zgody Agencji Żywności i Leków (FDA).¹⁷

W lecznictwie stosuje się głównie jeden gatunek, *E. senticosus*, stosunkowo mało jest informacji odnośnie składu chemicznego i aktywności biologicznej gatunków z nim spokrewnionych, takich jak *E. giraldii* (Harms) Nakai, *E. gracilistylus* (W.W Smith) S.Y. Hu, *E. divaricatus* (Siebold et Zucc.) S.Y. Hu, *E. setchuenensis* (Harms) Nakai, *E. sessiliflorus* (Rupr. et Maxim.) S.Y. Hu, *E. henryi* Oliv. i *E. lasiogyne* (Harms) S.Y. Hu.

Kora z korzeni *E. gracilistylus*, opisana w Farmakopei Chińskiej jako *Cortex Acanthopanax*, stosowana była w leczeniu reumatyzmu, jako środek tonizujący na wątrobę i nerki. Wykazano jej działanie immunomodulujące i przeciwnowotworowe.^{18,19}

Eleutherococcus sessiliflorus w medycynie ludowej stosowany był jako środek przeciwbólowy, przeciwgorączkowy i diuretyczny. Badania *in vitro* wykazały, że ekstrakty z liści hamowały aktywność lipazy.^{20 21}

Eleutherococcus setchuenensis stosowany był w Chinach jako środek wzmacniający, poprawiający krążenie krwi, przeciwreumatyczny.^{22,23}

Rośliny, oprócz leczniczego wykorzystania, stanowią bogate źródło składników odżywczych. Od kilku lat obserwowany jest nowy koncept badawczy. Istnieje grupa surowców, która posiada wysoki potencjał odżywczy i terapeutyczny, tzw. surowce nutrifarmaceutyczne (*pharmanutrition products*). Surowce te są przedmiotem intensywnych badań ze względu na unikatowe właściwości, łączące cechy surowców z pogranicza żywienia i farmakologii, cechy surowców, które pełnią inne funkcje niż tylko odżywcze. Według Folkerts i Garssen do tej grupy produktów można zaliczyć żywność funkcjonalną, która wg jednego z kryteriów powinna zawierać składniki, do których przypisany jest efekt działania.²⁴ Ponieważ rośliny z rodzaju *Eleutherococcus* od wieków stanowiły również surowiec spożywczy, tematyka badań Habilitanta została poszerzona o obszar tzw. *pharmanutrition products*.

W grupie społeczeństwa europejskiego odnotowuje się intensywny wzrost zainteresowania produktami zawierającymi w swoim składzie *Eleutherococcus*. Największą

¹⁷A. Arouca, M.G. Grassi-Kassise, Health, 5, 1509-1515, 2013.

¹⁸C.S. Yook, X.Q. Liu, S.Y. Chang, S.Y. Park, T. Nohara, Chem. Pharm. Bull. 50(10), 1383-1385, 2002.

¹⁹J.P. Hou, Y. Jin, The Howorth Integrative Healing Press, 94-96, 2010 [on line, 16.III.2010].

²⁰WHO Regional Publication, Western Pacific Series No. 21, Manila 1998.

²¹W.J. Jun., H.S. Seong, H. Chun, E.J. Lim, K.I. Kim, H.Y. Cho, Food Chem. 105, 1557-1563, 2007.

²²W.M. Zhao, G.W. Qin, R.S. Xu, X.Y. Li, J.S. Liu, Y. Wang, Fitot. 70, 529-131, 1999.

²³D. Zafuski, H.D. Smolarz, A. Bogucka-Kocka, Cur. Issu. Pharm. Med. Sci., 27(1), 41-45, 2014.

²⁴G. Folkerts, J. Garssen, Pharma-Nutrition, Springer 2014.

podaż oferuje rynek niemiecki, gdzie zarejestrowano 10 tradycyjnych produktów leczniczych, w Danii 2, w Szwecji, Hiszpanii, Francji i na Litwie 1. Ze względu na brak upraw surowca w Europie, preparaty czy surowiec są sprowadzane głównie z Chin. Badania wykazały, że ponad 26% preparatów zawierających w swoim składzie ekstrakty z korzeni *E. senticosus* i *Panax ginseng*, nie spełnia norm farmakopealnych i zawartość związków czynnych jest niższa niż wymogi farmakopealne i deklaracja producenta. Zdarzały się przypadki zafałszowania surowca, dodatek *Periploca sepium* jest najczęściej wykrywany. Powyższe zabiegi przyczyniają się do strat finansowych producentów leku roślinnego. Istotnym problemem są również malejące zasoby naturalne gatunków w północnej Rosji i Chinach, co skłania do podjęcia poszukiwań nowych źródeł *Eleutherococcus* w Europie. W Korei Południowej, Ministerstwo Środowiska wprowadziło *E. senticosus* na listę roślin chronionych.^{25, 26}

W Europie, największa kolekcja *Eleutherococcus* znajduje się w Polsce, w ogrodzie botanicznym w Rogowie. Warunki klimatyczne są dogodne dla wzrostu i rozwoju tych gatunków; dane geograficzne 51° 49'N i 53'E, średnia, długoterminowa temperatura wynosi 20.1 °C, co klasyfikuje ogród do 6b strefy klimatycznej (wg USDA Frost Hardiness Zones) i do drugiej strefy wg podziału „Kórnickiego”. Rośliny są uprawiane na glebie kwaśnej, piaszczystej, zasobnej w sole mineralne.²⁷

W ostatnich latach odnotowano wzrost zachorowalności na choroby cywilizacyjne, do których zalicza się choroby nowotworowe, metaboliczne, układu nerwowego i krążenia. Istotnym czynnikiem wpływającym na ich rozwój jest udział enzymów z rodziny hydrolaz, takich jak acetylocholinesteraza (AChE), butyrylocholinesteraza (BuChE), hialuronidaza (Hyal) i metaloproteinazy (MMPs).

Acetylocholinesteraza i butyrylocholinesteraza są enzymami hydrolizującymi neurotransmitery, takie jak acetylocholina i butyrylocholina. W trakcie rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, takich jak Alzheimer, ilość AChE spada o ok. 85%, wzrasta ilość BuChE. Według nowych koncepcji leczenia, istotną rolę powinno pełnić hamowanie BuChE, co mogłoby zwiększać ilość neurotransmiterów w mózgu i hamować rozwój choroby. Z tego względu w przedstawionym do oceny dorobku naukowym podjęto problematykę inhibicji nie tylko AChE ale również BuChE.^{28, 29}

²⁵ H.H. Fong, Integr. Cancer Ther. 3, 287-293, 2002.

²⁶ S. Yan-Lin, J. Med. Plants Res. 5(26), 6105-6111, 2011.

²⁷ J. Tumiłowicz, P. Banaszcak, Rocznik Dendrologiczny, 55, 41-56, 2007.

²⁸ A. Marston, J. Kissling, K. Hostettmann, Phytochem. Anal. 13, 51-54, 2002.

²⁹ S. Giovanni, A. Borloz, A. Urbain, Eur. J. Pharm. Sci. 33, 109-119, 2008.

Hialuronidazy odgrywają kluczową rolę w degradacji kwasu hialuronowego, głównego składnika macierzy zewnątrzkomórkowej, przyczyniając się do zwiększenia angiogenezy i metastazy. Uczestniczą w reakcjach zapalnych i alergicznych, zwiększają przepuszczalność tkanki łącznej, ułatwiając dyfuzję toksyn, jadów węży i pszczoł. W leczeniu niewiele jest inhibitorów hialuronidaz, stosowana escyna nie ma naukowego potwierdzenia jej skuteczności. Brak skutecznych inhibitorów Hyal zachęcił Autora do poszukiwania takich struktur w obrębie *Eleutherococcus*.^{30,31,32}

Metaloproteinazy są enzymami, które rozkładają białka macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Zwiększoną aktywność MMPs obserwuje się w chorobach tkanki łącznej, np.: reumatoidalnym zapaleniu stawów, chorobach przyzębia, a także w zaburzeniach kardiologicznych, chorobie Alzheimer'a, miażdżycy i zapaleniu nerwów. Odgrywają istotną rolę w metastazie nowotworów, np. nowotworów łagodnych i złośliwych skóry. Ich rola w nowotworzeniu opiera się głównie na rozkładzie ECM i aktywacji procesu angiogenezy. Wymiernym efektem ich aktywności jest wzrost przerzutów nowotworowych. Aktywowane promieniowaniem ultrafioletowym metaloproteinazy powodują rozkład białek skóry, takich jak kolagen, elastyna czy proteoglikany.^{33,34}

Ocena surowca roślinnego wymaga przeprowadzenia wielokierunkowych badań nad składem fitochemicznym oraz aktywnością biologiczną ekstraktów, przetworów i wyizolowanych składników. Zdecydowana większość dotychczasowych badań rodzaju *Eleutherococcus* dotyczy jednego gatunku, *E. senticosus*, natomiast metabolity i aktywność biologiczna pozostałych gatunków są niedostatecznie poznane. Mało znany jest profil metabolomiczny i bioaktywność gatunków uprawianych w Polsce. Najnowsze badania naukowe wskazują na znaczącą rolę prawidłowego żywienia w prewencji i wspomaganiu terapii schorzeń cywilizacyjnych. Badania zmierzające do określenia profilu nutrifarmaceutycznego *Eleutherococcus* nie były prowadzone do tej pory zarówno w Polsce i na świecie. Nie znany jest wpływ na aktywność hialuronidazy, acetylo- i butyrylocholinesterazy. Z tego względu podjęta problematyka badawcza ma charakter nowości naukowej i wyznacza nowe kierunki użyteczności leczniczej surowca roślinnego.

³⁰ U.R. Kuppusamy, N.P. Das, *Experientia*, 47(11-12), 1196-1200, 1991. ³¹ K.K. Lee, J.J. Cho, E.J. Park, J.D. Choi, *Internat. J. Cosmet. Sci.* 23, 341-346, 2001. ³² S.H. Moon, K.T. Kim, N.K. Lee, Y.S. Han, S.Y. Nah, S.G. Cho, Y.S. Park, H.D. Paik, *Food Sci. Biotech.* 18, 267-270, 2009. ³³ V.W. Yong, Ch. Power, P. Forsyth, D.R. Edwards, *Nat. Neurosci.* 2, 501-11, 2001. ³⁴ T. Tomita, K. Iwata, *Endocrine Path.* 10(1), 15-26, 1999.

3.2.2. Cel naukowo-badawczy

Wybór tematyki badawczej podyktowany został, w dużej mierze, brakiem badań fitochemicznych i aktywności biologicznej gatunków *Eleutherococcus* uprawianych w Polsce.

Celem badań naukowych, opisanych w publikacjach zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego, było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, czy gatunki z rodzaju *Eleutherococcus*, uprawiane w polskich warunkach klimatycznych mają przydatność surowca farmaceutycznego i/lub nutrifarmaceutycznego, i czy mogą być rozważane jako źródło surowca, uprawianego w Polsce, na skalę przemysłową?

- *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim.
- *Eleutherococcus setchuensis* (Harms) Nakai
- *Eleutherococcus sessiliflorus* (Rupr. & Maxim.) S.Y. Hu
- *Eleutherococcus gracilistylus* (W. W. Smith) S.Y. Hu
- *Eleutherococcus henryi* Oliv.
- *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold & Zucc.) S.Y. Hu
- *Eleutherococcus giraldii* (Harms) Nakai
- *Eleutherococcus lasiogyne* (Harms) S.Y. Hu

Cel nadrzędny został zrealizowany poprzez rozwiązanie trzech problemów badawczych:

1. Analiza jakościowa i ilościowa, izolacja i identyfikacja związków o charakterze metabolitów pierwotnych, wtórnych i składników odżywczych w ekstraktach i preparatach galenowych.
2. Analiza aktywności biologicznej ekstraktów, preparatów galenowych i wyizolowanych związków (inhibicja hialuronidazy, acetylocholinesterazy, butyrylocholinesterazy, metaloproteinaz, aktywność antyoksydacyjna i cytotoksyczna) z uwzględnieniem zależności SAR (**Structure-Activity Relationship**).

3.2.3. Omówienie wyników stanowiących podstawę habilitacji

Wykaz stosowanych skrótów: AChE - acetylocholinesteraza, BuChE - butyrylocholinesteraza, Hyal - hialuronidaza, MMPs - metaloproteinazy, SAR - zależność aktywność-struktura, UAE - ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami, mg/g DE - mg/g suchy ekstrakt, TPC - całkowita zawartość polifenoli, TFC - całkowita zawartość flawonoidów, DPPH* - 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl, DNPH - dinitrofenylohydrazyna, AAS - absorpcyjna spektrometria atomowa, PAMPA - przepuszczalność przez sztuczną błonę lipidową, HPTLC-DB - test bezpośredniej autografii, CEM/C1 - linia komórkowa ludzkiej ostrej białaczki limfoblastycznej, oporna na kamptotecynę, CCRF/CEM - linia komórkowa ludzkiej ostrej białaczki T limfoblastycznej, HL-60 - linia komórkowa ludzkiej ostrej białaczki promielocytowej, HL-60/MX1 i HL-60/MX2 - linie komórkowe ludzkiej ostrej białaczki promielocytowej (oporna na mitoksantron), Jurkat 45 - linia komórkowa ludzkiej ostrej białaczki limfoblastycznej.

Publikacja H-1

Załuski D., Cieśla Ł., Janeczko Z. „The Structure-Activity Relationships of Plant Secondary Metabolites with Antimicrobial, Free Radical Scavenging and Inhibitory Activity towards Selected Enzymes" w „Studies in Natural Product Chemistry (*Bioactive Natural Products*)". Edytor Prof. Atta-ur Rahman; Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Holandia. 45, 2015, 217-249.

MNiSW: 5 pkt

W trakcie pracy nad związkami roślinnymi i poszukiwaniem korelacji pomiędzy budową chemiczną a aktywnością, Autor został zaproszony do napisania rozdziału książkowego z tej tematyki. Zaproszenie do opracowania rozdziału jest uznaniem pracy Habilitanta w tej tematyce, dlatego praca została włączona do osiągnięć naukowych, zgłaszanych do postępowania habilitacyjnego.

Literatura naukowa dotycząca zależności pomiędzy strukturą pojedynczych związków pochodzenia roślinnego, a ich aktywnością jest niewystarczająco opisana. Większość danych odnosi się do aktywności ekstraktów lub, w ograniczonym stopniu, do pojedynczych związków. W dostępnej literaturze brakowało opracowania opisującego mechanizmy działania roślinnych związków o potencjale inhibitorów Hyal, AChE, BuChE, MMPs, przeciwbakteryjnym i antyoksydacyjnym, z uwzględnieniem zależności struktura-aktywność (SAR). To zachęciło Autora do podjęcia tej problematyki, efektem czego był rozdział książkowy o zasięgu międzynarodowym. Szczegółowa analiza literatury naukowej, ponad 700 pozycji, pozwoliła na poszerzenie wiedzy i opracowanie ważnego dla nauki rozdziału.

W pierwszej części przedstawiono budowę i rolę biologiczną hialuronidaz. Szczególną uwagę poświęcono inhibitorom tych enzymów, obecnych w grupie związków triterpenowych, składników olejków eterycznych, kwasów fenolowych i flawonoidów. Skupiono się na określeniu wartości IC_{50} , K_i i rodzaju inhibicji. Wykazano, że najsilniejsze działanie posiadają związki fenolowe (kwas fenolowy i flawonoidy), których mechanizm działania oparty jest na kompleksowaniu jonów metali obecnych w środowisku reakcyjnym lub centrum aktywnym enzymu. Stopień inhibicji zależał od liczby grup -OH w cząsteczce, szczególnie w pozycji 3,3' i 5'.

Opisano inhibitory AChE i BuChE, które zidentyfikowane zostały m.in. w grupie alkaloidów i terpenów. Współczesne badania naukowe wykazały, że terpeny mogą być alternatywną dla alkaloidów grupą inhibitorów. Wysoka aktywność niektórych związków [(+)-2-karen, IC_{50} 0.2 mM; (+)-pulegon, IC_{50} 0.89 mM] zależna jest od położenia wiązania C=C, największą aktywność wykazują związki typu C3.

Następna część zawiera charakterystykę inhibitorów MMPs. Jednym z silniej działających związków jest kwas anakardowy, który chelatuje jony cynku i tworzy wiązania wodorowe z grupami czynnymi aminokwasów centrum aktywnego enzymu.

W dalszej części opisano mechanizmy przeciwbakteryjnego i przeciwgrzybicznego działania związków roślinnych. Dla większości analizowanych struktur chemicznych (plumbagin, pinocembryna, chalkon pinocembryny, tymol, karwakrol) wykazano, że mechanizm ich działania oparty jest na indukowaniu zmian w strukturze błon komórkowych, prowadząc do destabilizacji komórki. Związki te wpływają na procesy energetyczne, takie jak fosforylacja adenozy, obniżając poziom energetyczny komórki.

Dużą uwagę poświęcono problematyce zależności aktywności antyoksydacyjnej związków od ich budowy. Skupiono się na związkach niefenolowych (mono-, di- i seskwiterpeny, karotenoidy), których aktywność antyoksydacyjna jest słabo poznana. Dotychczas uważano, że za aktywność olejku eterycznego odpowiadają związki fenolowe, np. tymol, karwakrol, eugenol. Najnowsze badania naukowe wskazują na znaczący udział w aktywności antyoksydacyjnej składników niefenolowych olejku eterycznego. Aktywność antyoksydacyjna tych związków jest zależna od obecności grupy metylenowej, ugrupowania 1,4-cykloheksadienu i skoniugowanego wiązania π w łańcuchu terpenowym. Analiza literatury dostarczyła bardzo ciekawych informacji odnośnie wpływu polarności środowiska na aktywność antyoksydacyjną terpenów. Niektóre związki terpenowe są aktywne w środowisku niepolarnym, niektóre w polarnym. Przyczyny tych reakcji nie zostały jeszcze wyjaśnione.

Rozdział stanowi zbiór aktualnego stanu wiedzy na temat zależności pomiędzy strukturą związków roślinnych a aktywnością. Opracowanie było inspiracją do planowania i wykonania części doświadczalnej, zawartej w pozostałych publikacjach, stanowiących podstawę habilitacji.

Publikacja H-2

Załuski D., Janeczko Z., Variation in phytochemicals and bioactivity of the fruits of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland, *Natural Product Research*, 2015; 29(23), 2207-11.

IF 1.057, MNiSW: 20 pkt

W dostępnej literaturze naukowej nie było badań dotyczących wydajności ekstrakcji UAE, zawartości związków fenolowych, składu mineralnego, składu olejku eterycznego w owocach *E. senticosus* i *E. henryi* świeżo suszonych i po rocznym przechowywaniu w warunkach domowych (temperatura pokojowa, ciemne miejsce). Ponadto, zbadano wpływ ekstraktów na aktywność Hyal i zdolność redukcji DPPH*.

W pierwszym etapie określono wydajność ekstrakcji (UAE; 75% wodny roztwór etanolu), wykazując najwyższy procent wydajności (44.02) dla świeżo wysuszonych owoców *E. senticosus*, po rocznym przechowywaniu surowca wydajność zmalała do 27%. Nie zauważono znaczących zmian w całkowitej zawartości polifenoli dla analizowanych prób (3850-4350 mg/100g DE). Całkowita zawartość flawonoidów zawierała się w przedziale 1340-1800 mg/100g DE i była najwyższa dla świeżo suszonych owoców *E. henryi*. Na podstawie analizy wyników z DNPH zauważono, że obydwa gatunki zawierają więcej flawononów i dihydroflawonoli. Uwzględniając skład mineralny, suszone owoce *E. henryi* przechowywane rok, zawierały najwięcej Ca, Mg, Mn, Cu (6885, 2815, 364, 8.62 mg/kg). Suszone owoce *E. senticosus* przechowywane rok zawierały najwyższą ilość Fe spośród innych prób (53 mg/kg). Na podstawie analizy literatury, nie stwierdzono obecności Fe w owocach *E. senticosus* rosnącego w Azji.

W kolejnym etapie badań, stosując GC-MS/MS, określono skład olejku eterycznego. Wszystkie próbki zawierały 0.3% v/d.w. olejku. Zgodnie z wymogami farmakopealnymi, uwzględniającymi zawartość olejku w surowcu, taka ilość kwalifikuje powyższe gatunki jako surowiec olejkowy (>0.1%). Najwięcej składników olejku zidentyfikowano w owocach *E. henryi* (30) i *E. senticosus* (7) po rocznym przechowywaniu, natomiast owoce świeżo suszone obydwu gatunków zawierały po trzy składniki. Dominującym składnikiem olejku w *E.*

senticosus był spatulenol (92.07% dla surowca świeżo suszonego i 11.34% po rocznym przechowywaniu). Z kolei w świeżo suszonych owocach *E. henryi* dominował β -longipinen (49.11%), po rocznym przechowywaniu stwierdzono najwięcej *iso*-longifololu (24.23%).

Zbadano wpływ ekstraktów na aktywność hialuronidazy. Wartość IC₅₀ zawierała się w przedziale 0.58-0.87 mg/ml, przy największej wartości dla owoców *E. senticosus* po rocznym przechowywaniu.

Analizowane surowce wykazały stosunkowo wysoką zdolność redukcji rodnika DPPH* (EC₅₀ 0.1-0.29 mg/ml). Najwyższą aktywność wykazały świeżo suszone owoce *E. senticosus*.

Uzyskane wyniki wskazują na brak istotnych zmian w zawartości polifenoli i flawonoidów, jak również zmian w aktywności biologicznej pomiędzy gatunkami, oraz surowcem świeżo suszonym i rok przechowywanym. Przez ten okres surowiec nie traci aktywności biologicznej, można zasugerować, że minimalny okres przydatności surowca wynosi jeden rok.

Publikacja H-3

Załuski D, Olech M., Galanty A., Verpoorte R., Kuźniewski R., Nowak R., Bogucka-Kocka A., Phytochemical content and pharma-nutrition study on *Eleutherococcus senticosus* fruits intractum. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016; 1-10.

IF 4.593, MNiSW: 30 pkt

Wyniki wieloletniej analizy surowca, jak również zauważalny wzrost zainteresowania preparatami galenowymi na rynku europejskim, zachęciły Autora do zbadania profilu chemiczno-biologicznego intraktu sporządzonego na bazie owoców z *Eleutherococcus senticosus* (produktu, który nie jest jeszcze dostępny na rynku). Celem pracy była analiza kwasów fenolowych i składu mineralnego w intrakcie, oraz jego aktywność cytotoksyczna, inhibicyjna wobec hialuronidazy i antyoksydacyjna.

W pierwszym etapie pracy określono całkowitą zawartość flawonoidów i polifenoli. Intrakt charakteryzował się wysoką zawartością sumy flawanonów i dihydroflawonoli (73.5 mg/g DE) w porównaniu do całkowitej zawartości flawonoidów (92 mg/g DE). Całkowita zawartość polifenoli wyniosła 130 mg/g DE.

Do analizy kwasów fenolowych zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas (LC-ESI-MS/MS). Analizator ESI-MS został ustawiony w trybie MRM (*multiple reaction monitoring*), który gwarantuje wyższą

selektywność i dokładność oznaczeń ilościowych w porównaniu z technikami SRM (*single reaction monitoring*) i SIM (*single ion monitoring*). Na podstawie wyników analizy metodą LC-ESI-MS/MS o negatywnej jonizacji, zidentyfikowano 9 kwasów fenolowych, wobec 16 kwasów wzorcowych. Intensywny sygnał zaobserwowano dla jonów o m/z 178.7→134.9, charakterystyczny dla kwasu *trans*-kawowego i o m/z 166.8→107.9, charakterystyczny dla kwasu wanilinowego. W największej ilości oznaczono kwas *trans*-kawowy w surowym intrakcie (41.2 mg/g DE), oraz wanilinowy po hydrolizie kwasowej (21.1 mg/g DE).

Stosując technikę AAS określono skład mineralny intraktu. Na uwagę w niniejszej pracy zasługuje wysoka zawartość żelaza (32.7 mg/kg), która jest wyższa niż w owocach róży (27.0 mg/kg), popularnym surowcu leczniczym i odżywczym stosowanym w Europie. Drugim mikroelementem o wysokiej zawartości był mangan (54.3 mg/kg).

Wzrost aktywności hialuronidazy obserwuje się w niektórych stanach patologicznych, np. złośliwy guz graniczny (48.7 mI.U./mg białka), torbiele czynnościowe jajników (53.4 mI.U./mg białka), łagodny nowotwór nabłonkowy (89.2 mI.U./mg białka), rak graniczny jajnika (108.9 mI.U./mg białka). Aktywność w stanie fizjologicznym w jajnikach wynosi 30 mI.U./mg białka. Badając wpływ intraktu na aktywność Hyal, w omawianej publikacji, uwzględniono powyższe jednostki aktywności. Zaobserwowano istotne obniżenie aktywności hialuronidazy wobec próby kontrolnej z escyną i naryngeniną. Najwyższy procent inhibicji wykazał intrakt w zakresie 60-2.1%, następnie escyna w zakresie 50-13.5% i naryngenina w zakresie 38.9-15.4%. Wykazano, że % inhibicji Hyal był zależny od jednostki aktywności i malał wraz ze wzrostem jednostki.

Posługując się testem z błękitem trypanu zbadano aktywność cytotoksyczną intraktu wobec ludzkich linii białaczkowych CEM/C1, CCRF/CEM, HL-60, HL-60/MX1 i HL-60/MX2. Wartość IC_{50} zawierała się w przedziale od 10.4 do 50 μ g/ml. Największą cytotoksyczność stwierdzono wobec linii ludzkiej białaczki promielocytowej HL-60 (IC_{50} 10.4 μ g/ml; kontrola podofilotoksyna IC_{50} 0.0085 μ g/ml).

Na podstawie reakcji redukcji DPPH*, określono aktywność antyoksydacyjną intraktu. Wartość EC_{50} wyniosła 52 μ g/ml. Jako kontrole zastosowano kwas askorbinowy (EC_{50} 40 μ g/ml) i α - tokoferol (EC_{50} 5 μ g/ml). Antyoksydacyjną aktywność intraktu potwierdzono testem TLC-DB/DPPH* dot-blot, gdzie odbarwienie DPPH* zauważono po jednej minucie dla stężenia intraktu 10 μ g/plama.

Uzyskane wyniki stanowią podstawę do kontynuowania badań z użyciem intraktu w zakresie badań *in vivo*, celem potwierdzenia bezpieczeństwa jego stosowania. Wysoka

aktywność antyoksydacyjna i inhibicyjna inkraktu wobec hialuronidazy może być wynikiem obecności grup karboksylowych i ugrupowań fenolowych w kompleksach fenolokwasowo-flawonoidowych.

Publikacja H-4

H-3: Załuski D., Mendyk E., Smolarz H.D., Identification of the MMP-1 and MMP-9 inhibitors from the roots of *Eleutherococcus divaricatus*, and the PAMPA test. Natural Product Research, 2016; 30(5), 595-599.

IF 1.828, MNiSW: 20 pkt

Celem pracy była izolacja związków o potencjale inhibitorów MMP-1 i MMP-9 z chloroformowego ekstraktu z korzeni *E. divaricatus*, określenie ich rozpuszczalności kinetycznej i przepuszczalności przez błonę półprzepuszczalną.

Wcześniejsze badania własne wykazały, że chloroformowy ekstrakt z korzeni *E. divaricatus* hamował MMP-1 na poziomie 100% i MMP-9 na poziomie 39% [D7]. W celu poszukiwania pojedynczych inhibitorów, podjęto próbę izolacji i identyfikacji składników ekstraktu. W pierwszym etapie badań, stosując technikę chromatografii kolumnowej (żel krzemionkowy 60, sefadeks LH-20), wyizolowano (+)-sezaminę [2,6-bis(3,4-metylenodiodksyfenylo)-3,7-dioksybicyklo(3.3.0)octan]. Identyfikacji związku dokonano na podstawie analizy widm GC/MS, ¹H i ¹³C NMR, HMQC, HMBC, COSY, DEPT. (+)-Sezaminy, w postaci wolnej, została oznaczona po raz pierwszy w tym gatunku.

W badaniach biologicznych (+)-sezamina oraz substancje wzorcowe eleuterozydów B, E, E1 oraz izofraksydyna, kwas oleanolowy i ursolowy hamowały aktywność MMP-1 i MMP-9. Najwyższy procent inhibicji wobec dwóch enzymów wykazał kwas ursolowy (90.9%/MMP-1; 89.8%/MMP-9). Jako kontrolę zastosowano TIMP-1 (tkankowy inhibitor metaloproteinaz) i o-fenantrolinę. Poziom inhibicji dla TIMP-1 wyniósł odpowiednio 72.7%/MMP-1; 77.9%/MMP-9, dla o-fenantroliny 63.6%/MMP-1; 81.3%/MMP-9.

Jednym z problemów w analizie fitochemicznej jest rozpuszczalność związków. W tym celu określono rozpuszczalność kinetyczną dla (+)-sezaminy i kwasu ursolowego. Oba związki dobrze rozpuszczały się w buforze 0.1M PBS/30% EtOH, pH 7.4 (138 i 240 µg/ml dla (+)-sezaminy i kwasu ursolowego), nieco słabiej w buforze 0.1M PBS pH 7.4 (10 i 170 µg/ml dla (+)-sezaminy i kwasu ursolowego). Uwzględniając rozpuszczalność związków chemicznych, stworzono trzy grupy rozpuszczalności; niska (< 10 µg/ml), średnia (10-60 µg/ml), wysoka (> 60 µg/ml). Na podstawie uzyskanych wyników rozpuszczalności, bufor

0.1M PBS/30% EtOH, pH 7.4 stanowił dobry rozpuszczalnik dla tych związków, rozpuszczalność była wysoka.

Efekt biologiczny związków zależy również od ich przepuszczalności przez błony biologiczne. W tym celu, posługując się testem PAMPA z detekcją LC/MS, zbadano zdolność dyfuzji kwasu ursolowego i (+)-sezaminy przez błonę PVDF, pokrytą 1% r-em L- α -fosfatydylocholiny. Stwierdzono wysoką przepuszczalność dla kwasu ursolowego (Pe 30.0×10^{-6} cm/s) i średnią dla (+)-sezaminy (Pe 17.4×10^{-6} cm/s). Jako kontrolę pozytywną użyto werapamilu (Pe 42.1×10^{-6} cm/s), jako negatywną teofiliny (Pe 2.9×10^{-6} cm/s).

Uzyskane wyniki dostarczają ważnych informacji odnośnie regulacji aktywności MMP-1 i MMP-9 na poziomie biochemicznym, przez surowe ekstrakty i izolowane z nich składniki. Wysoka aktywność kwasu ursolowego i przepuszczalność przez błonę PVDF zachęcają do kontynuowania badań na poziomie molekularnym i komórkowym. Użyte po raz pierwszy bufory, jako rozpuszczalniki sezaminy i kwasu ursolowego, pozwolą na wykluczenie z grupy badań biologicznych *in vitro* i *in vivo* toksycznych rozpuszczalników (np. chloroform, metanol, DMSO).

Publikacja H-5

Załuski D., Kuźniewski R., In Vitro Anti-AChE, Anti-BuChE, and antioxidant activity of 12 extracts of *Eleutherococcus* species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016; 1-7.

IF 4.593, MNiSW: 30 pkt

Rośliny z rodzaju *Eleutherococcus* od lat były stosowane w krajach Azji w celu polepszenia pamięci i procesów kojarzeniowych. Współczesna literatura naukowa opisuje kilka badań wpływu ekstraktów z *E. senticosus* na regenerację neuronów uszkodzonych przez $\beta(25-35)$ amyloid, natomiast nie znany jest wpływ ekstraktów czy pojedynczych związków na aktywność AChE i BuChE.

W niniejszej pracy wykazano, że 75% etanolowe ekstrakty z korzeni *E. senticosus*, *E. gracilistylus*, *E. divaricatus*, *E. setchuenensis*, *E. sessiliflorus* i *E. henryi* obniżały aktywność AChE w zakresie IC₅₀ 0.3-1.75 mg/ml, najsilniej hamowały *E. setchuenensis* i *E. sessiliflorus*. Wykazano również hamowanie aktywności BuChE w zakresie IC₅₀ 0.13-1.22 mg/ml, najsilniej hamował *E. henryi*.

Spośród ekstraktów chloroformowych, aktywność wobec AChE wykazały *E. senticosus*, *E. setchuenensis* i *E. gracilistylus* w zakresie IC_{50} 0.37-1.08 mg/ml, najsilniej hamował *E. gracilistylus*. Wszystkie ekstrakty chloroformowe hamowały aktywność BuChE w zakresie IC_{50} 0.12-1.68 mg/ml, najsilniej hamowały *E. setchuenensis*, *E. sessiliflorus* i *E. gracilistylus*.

W dalszej części pracy podjęto próbę poszukiwania pojedynczych inhibitorów w ekstraktach, stosując test HPTLC-DB. W ekstraktach etanolowych oznaczono cztery związki hamujące zarówno AChE i BuChE, natomiast w ekstraktach chloroformowych oznaczono pięć związków.

W rozwoju chorób neurodegeneracyjnych istotną rolę pełnią wolne rodniki, które mogą powodować trwałe uszkodzenie neuronów. Ekstrakty roślinne ze względu na zawartość związków polifenolowych mogą działać przewencyjnie. W omawianej pracy wykazano, że ekstrakty etanolowe i chloroformowe zawierały związki redukujące DPPH*. Stosując test HPTLC-DB/DPPH*, w ekstrakcie etanolowym z korzeni *E. henryi* oznaczono osiem związków redukujących DPPH*, spośród ekstraktów chloroformowych, najwięcej związków redukujących DPPH*, cztery, zawierał *E. senticosus* i *E. divaricatus*.

Wyniki powyższych badań zachęcają do izolacji związków czynnych i określenia mechanizmów inhibicji metodami mikrokalorymetrycznymi i spektralnymi. Częściowo potwierdzają słuszość stosowania surowca przez ludność Azji w chorobach neurodegeneracyjnych. Odkrycie inhibitorów AChE i BuChE w tych surowcach roślinnych stwarza możliwość ich wykorzystania w polepszeniu pamięci oraz poprawie funkcji poznawczych i behawioralnych poprzez normalizację neurotransmisji cholinergiczej w mózgu.

Publikacja H-6

Załuski D., Kuźniewski R., Janeczko Z., HPTLC-profiling of eleutherosides, mechanism of antioxidative action of eleutheroside E1, the PAMPA test with LC/MS detection and the structure–activity relationship. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018; 25, 520-528.

IF 2.564, MNiSW: 25 pkt

Współczesne badania fitochemiczne dążą w kierunku wskazywania pojedynczych składników odpowiedzialnych za efekt terapeutyczny, z określeniem ich mechanizmów działania. W tej pracy podjęto próbę określenia przydatności *Eleutherococcus lasiogyne* i *Eleutherococcus giraldii* uprawianych w Polsce, jako potencjalne surowce zielarskie.

Założeniem pracy była analiza chromatograficzna eleuterozydów B (4- β -D-glukozyd syryngarezynolu), E (4,4''-O- β -D-diglukozyd(-)-syryngarezynolu) i E1 (4-O- β -D-glukozyd-(+)-syryngarezynolu) w 75% etanolowych ekstraktach z korzeni. Określono aktywność antyoksydacyjną ekstraktów i eleuterozydów, opracowano mechanizm antyoksydacyjnego działania eleuterozydu E1, jak również wykonano test PAMPA-LC/MS dla eleuterozydu E1.

Do identyfikacji eleuterozydów B, E i E1 w ekstraktach posłużono się techniką wysokowydajnej chromatografii cienkowarstwowej HPTLC (*High Performance Thin Layer Chromatography*). Identyfikacji eleuterozydów dokonano na podstawie porównania wartości R_f substancji wzorcowych ze związkami obecnymi w ekstrakcie, wykonano skany UV (241.2 nm). Na podstawie uzyskanych densytogramów stwierdzono obecność eleuterozydów B, E i E1 w obydwóch ekstraktach. Następnie oznaczono całkowitą zawartość polifenoli i fawonoidów. Korzenie *E. giraldii* i *E. lasiogyne* zawierały podobną ilość TPC (odpowiednio 51.4 i 49.3 mg/g DE) i TFC (odpowiednio 4.8 i 5.5 mg/g DE).

Zdolność redukcji DPPH* była na poziomie wartości EC_{50} 0.18 i 0.17 mg/ml dla *E. giraldii* i *E. lasiogyne*. Spośród eleuterozydów B, E i E1 tylko eleuterozydy E1 i E wykazały potencjał redukujący dla EC_{50} 37.03 μ g/ml i 5.4 mg/ml. Na uwagę zasługuje wysoki potencjał eleuterozydu E1, wyższy niż kwasu askorbinowego użytego jako kontrola (EC_{50} 41 μ g/ml). Aktywność antyoksydacyjna eleuterozydu E1 została dodatkowo potwierdzona testem HPTLC-DB/DPPH*.

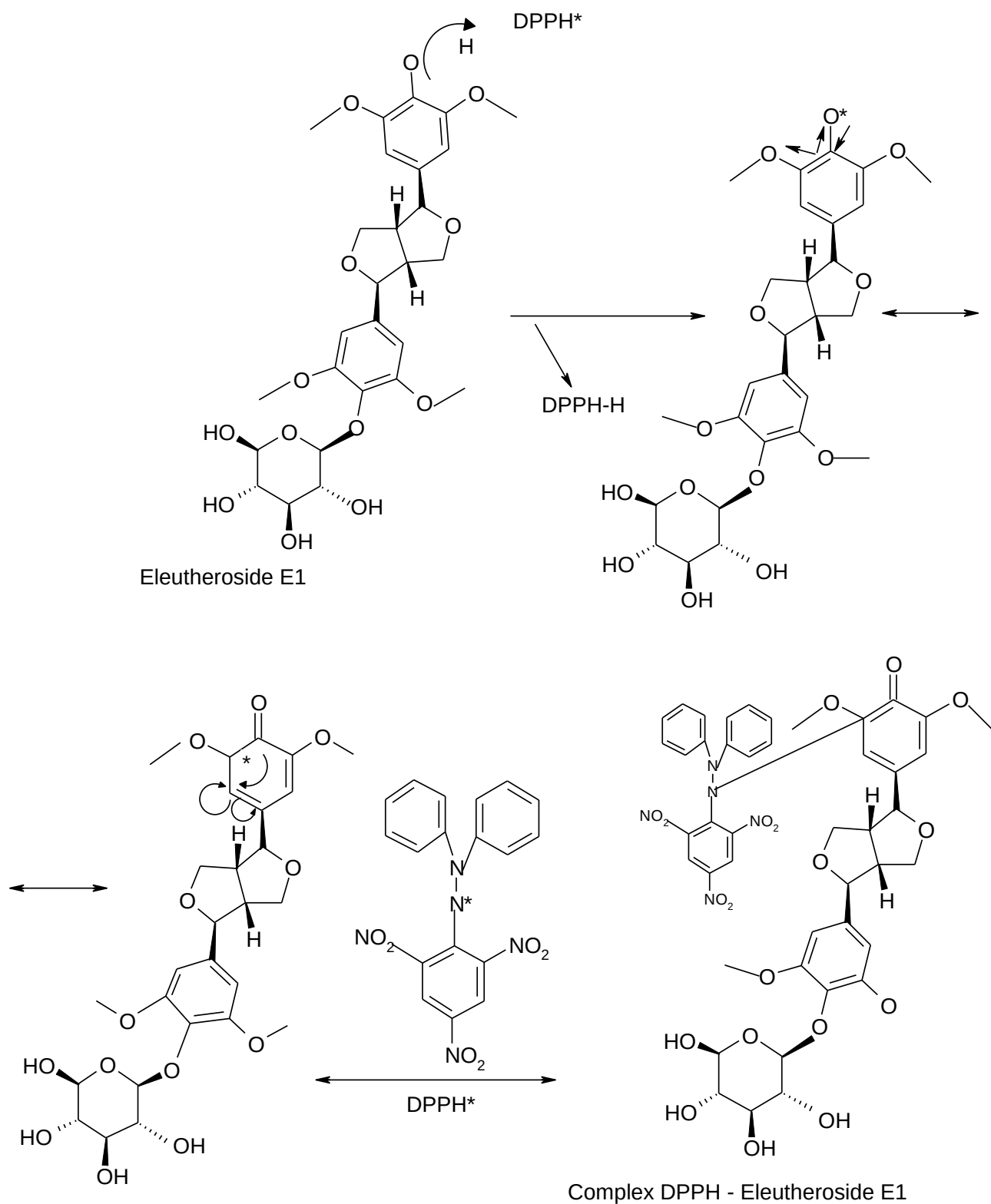
W teście PAMPA-LC/MS (transport bierny) wykazano obecność sygnału w kompartmentie akceptora o m/z 579.2, który jest charakterystyczny dla eleuterozydu E1. Dodatkowo jego identyfikację potwierdzono poprzez porównanie widm ESI-MS i czasu retencji ($R_t=1.5$ min.) ze wzorcem. Eleuterozyd E1 wykazał niski stopień przenikalności przez błonę półprzepuszczalną (Pe 0.5×10^{-10} cm/s).

Uzyskane wyniki zachęciły Autora do poszukiwania zależności pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną a strukturą eleuterozydów. Rozważania dotyczące tego problemu zostały ujęte w *Hipotezie Załuskiego*. Głównym założeniem hipotezy było wyjaśnienie potencjalnego mechanizmu antyoksydacyjnego działania eleuterozydu E1. Wielu badaczy uważa, że aktywność antyoksydacyjna zależy od ilości wolnych grup -OH, szczególnie w pozycji *orto*- i *para*-, od masy cząsteczkowej, jak również od obecności grupy -OH przyłączonej do C2 połączonego z C3 wiązaniem podwójnym. Eleuterozyd E1 jest glukozydem syryngarezynolu, który posiada wolną grupę -OH w pozycji *para* pierścienia aromatycznego, jak również cztery grupy -OCH₃ w pozycji *meta*. Według założeń hipotezy,

antyoksydacyjny mechanizm działania eleuterozydu E1 oparty jest na interakcji DPPH* z wolną grupą -OH w pozycji *para*- pierścienia aromatycznego (Rys. 1). W trakcie tej reakcji tworzy się rodnik aryłowy eleuterozydu E1 (E1*) i DPPHH. Rodnik aryłowy (E1*) łączy się z kolejną cząstką DPPH* według poniższych równań reakcji.



Dodatkowo rodnik aryłowy może być stabilizowany przez grupy -OCH₃, obecne w pierścieniu aromatycznym eleuterozydu E1.



Rys. 1. Sugerowany mechanizm przeciwrodnikowego działania eleuterozydu E1.

Publikacja H-7

Załuski D., Olech M., Kuźniewski R., Verpoorte R., Nowak R., Smolarz H.D., LC-ESI-MS/MS profiling of phenolics from *Eleutherococcus* spp. inflorescences, structure-activity relationship as antioxidants, inhibitors of hyaluronidase and acetylcholinesterase. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2017; 25, 734-743.

IF 2.302, MNiSW: 20 pkt

Kwiatostany gatunków *Eleutherococcus* stanowią surowiec roślinny, którego metabolity wtórne i aktywność biologiczna nie zostały zbadane przez żaden zespół naukowy. Z tego względu dobór surowca do badań stanowi jeden z elementów nowości naukowej prezentowanej pracy. Celem pracy była ilościowa analiza kwasów fenolowych w 75% etanolowych ekstraktach z kwiatostanów *E. senticosus*, *E. gracilistylus* i *E. giraldii*, określenie ich aktywności antyoksydacyjnej, inhibicyjnej wobec hialuronidazy i acetylocholinesterazy. Kluczowym celem było poszukiwanie zależności, pomiędzy strukturą chemiczną głównych związków czynnych a ich aktywnością.

Stosując ekstrakcję typu UAE wykazano, że wydajność ekstrakcji zawierała się w przedziale 15.24-26.64%, najwyższa była dla kwiatostanów *E. gracilistylus*. Największą całkowitą zawartość polifenoli (5.18 mg/g DE) stwierdzono w kwiatostanach *E. giraldii*, natomiast flawonoidów w *E. gracilistylus* (1.8 mg/g DE). Na podstawie widm ESI-MS, zaobserwowano intensywne sygnały dla jonów o masie $[M-H]^-$ równej 152.9→107.8 i 178.7→134.9, które pochodziły od kwasów protokatechowego i *trans*-kawowego. Analiza ilościowa ujawniła wysoką zawartość kwasu protokatechowego (*E. gracilistylus*, *E. giraldii* i *E. senticosus*; 833.4; 855.6; 614.7 µg/g DE) i *trans*-kawowego (*E. gracilistylus*, *E. giraldii* i *E. senticosus*; 280.8; 156.0; 167.6 µg/g DE).

Uwzględniając działanie antyoksydacyjne, kwiatostany *E. gracilistylus* posiadały największą zdolność chelatowania Fe^{2+} , hamowania peroksydacji lipidów i redukowania DPPH* (EC_{50} 0.2; 3.2; 0.48 mg/ml). Tylko *E. gracilistylus* i *E. giraldii* hamowały aktywność AChE na poziomie 16.1 i 12.2%, dla stężenia ekstraktów 22 µg. Wyższy procent inhibicji oznaczono wobec hialuronidazy w zakresie 16.4-60.7%, dla stężenia ekstraktów 22 µg. Najwyższą inhibicję wykazały kwiatostany *E. giraldii*.

Związki fenolowe ze względu na strukturę chemiczną mogą być odpowiedzialne za działanie antyoksydacyjne surowca, jak również za inhibicję enzymów. Analizy statystyczne ujawniły silnie dodatnią korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną i zawartością kwasu protokatechowego (R^2 0.62-0.72), jak również całkowitą zawartością

polifenoli (R^2 0.61-0.71). Kwas protokatechowy i *trans*-kawowy posiadają dwie wolne grupy -OH, które mogą chelatować jony metali, jak również być donorem elektronów w interakcji z DPPH*. Wykazano silnie dodatnią korelację pomiędzy inhibicją AChE i zawartością kwasu protokatechowego (R^2 0.91).

Wyniki badań sugerują, że kwiatostany mogą być użyte jako potencjalny surowiec zielarski. Celowym wydaje się prowadzenie dalszych prac badawczych z zakresu bezpieczeństwa stosowania surowca i jego przetworów.

Publikacja H-8

Załuski D., Olech M., Verpoorte R., Khan I., Kuźniewski R., Nowak R., Phytoconstituents and nutritional properties of the fruits of *Eleutherococcus divaricatus* and *Eleutherococcus sessiliflorus* - a study of non-European species cultivated in Poland. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017; 1-10.

IF 4.593, MNiSW: 30 pkt

Założeniem pracy było poznanie profilu odżywczo-chemicznego owoców *Eleutherococcus divaricatus* i *Eleutherococcus sessiliflorus*. Ponadto, określenie potencjalnego poszerzenia obszaru wykorzystania owoców jako nowe składniki produktów z grupy *pharmanutrition products*.

Uwzględniając skład odżywczy, wykazano wysoką zawartość błonnika w zakresie 45.63-61.41%. Owoce *E. sessiliflorus* charakteryzowały się wyższą zawartością węglowodanów (25.7%) niż owoce *E. divaricatus* (2.5%) i mogą być rozważane jako składniki diet wysokowęglowodanowych. Nie zauważono znacznej różnicy w wartości kalorycznej owoców (255 i 273 kcal/100g dla *E. divaricatus* i *E. sessiliflorus*). Na podstawie wyników analizy AAS stwierdzono wysoką ilość Ca i K (odpowiednio, *E. divaricatus* 3310 i 2100 mg/kg; *E. sessiliflorus* 1730 i 2790 mg/kg). Z kolei wyniki chromatografii gazowej (GC-FID) wykazały obecność 36 kwasów tłuszczowych. Dominującą grupę stanowiły kwasy jednonienasycone (*E. divaricatus*, 57.95%; *E. sessiliflorus*, 54.84%) i kwasy wielonienasycone (*E. divaricatus*, 36.22%; *E. sessiliflorus*, 37%). Na szczególną uwagę zasługuje trzykrotnie wyższa ilość kwasu α -linolenowego w owocach *E. sessiliflorus* (2.27%) w porównaniu do owoców *E. divaricatus*.

Następnie przygotowano 75% etanolowe ekstrakty z owoców. Ze względu na fakt, że owoce są popularnymi składnikami wielu herbat ziołowo-owocowych, sporządzono również napary, celem określenia ich przydatności jako potencjalne składniki takich

produktów. Ekstrakty etanolowe zawierały nieco większą zawartość TPC w stosunku do naparów, w zakresie 45.3-52.3 mg/g DE. Całkowita zawartość flawonoidów była w zakresie 18.4-23.0 mg/g DE.

Na podstawie analizy widm ESI-MS, zaobserwowano intensywne sygnały dla jonów o masie $[M-H]^-$ równej 152.9→107.8 i 462.7→299.7, które pochodziły od kwasu protokatechowego i hiperozydu. Analiza ilościowa ujawniła znaczącą zawartość kwasu protokatechowego i hiperozydu, zarówno w naparach i ekstraktach etanolowych. Największą zawartością kwasu protokatechowego charakteryzowały się ekstrakty etanolowe z owoców *E. sessiliflorus* (818 µg/100g DE). W przypadku naparów zawartość kwasu protokatechowego była zbliżona (267 i 270 µg/100g DE dla *E. sessiliflorus* i *E. divaricatus*). Ekstrakty etanolowe z owoców *E. divaricatus* zawierały 780 µg/100g DE hiperozydu, spośród naparów najwięcej hiperozydu oznaczono w owocach *E. sessiliflorus* (280 µg/100g DE).

Przedstawione wyniki badań stwarzają nowe perspektywy dla rozwoju efektywnych produktów nutrifarmaceutycznych, które potencjalnie będą mogły być użyte w prewencji czy wspomaganiu terapii chorób cywilizacyjnych.

3.2.4. Podsumowanie wyników badań stanowiących podstawę habilitacji

Monotematyczny cykl publikacji stanowiący podstawę habilitacji, obejmuje 8 publikacji opublikowanych w latach 2015-2018, z sumarycznym współczynnikiem oddziaływania IF 21.53, co stanowi 180 pkt. MNiSW. Wyniki badań były prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci wystąpień ustnych i prezentacji posterowych. Badania poszerzają wiedzę na temat metabolitów obecnych w gatunkach *Eleutherococcus* uprawianych w Polsce. Poznanie panelu aktywności biologicznej gatunków dostarczyło cennego źródła informacji o przydatności farmaceutycznej i nutrifarmaceutycznej surowca, z uwzględnieniem związków fenolowych oraz składników odżywczych.

Najważniejsze osiągnięcia przedstawione w publikacjach obejmują:

a) Wykazanie, że gatunki uprawiane w Polsce zawierają związki czynne (eleuterozydy, kwasy fenolowe, flawonoidy), które mogą wpływać na właściwości lecznicze surowca. Ponadto, związki mineralne mogą wzmacniać potencjał terapeutyczny surowca.

b) Opracowanie hipotezy wyjaśniającej mechanizm antyoksydacyjnego działania eleuterozydu E1. Zaobserwowano zależność aktywności antyoksydacyjnej eleuterozydów od obecności i położenia grupy -OH. Eleuterozyd E1 posiada wolną grupę -OH przyłączoną bezpośrednio do pierścienia aromatycznego, która może wchodzić w interakcje z wolnymi rodnikami. Takiego ugrupowania nie posiadają eleuterozydy B i E, które równolegle wykazały niski potencjał antyoksydacyjny.

c) Określenie przydatności farmaceutycznej kwiatostanów z *E. senticosus*, *E. gracilistylus* i *E. giraldii* jako nowych potencjalnych surowców zielarskich. Wykazano, że kwiatostany charakteryzują się wysoką zawartością kwasu protokatechowego i *trans*-kawowego, o uznanych właściwościach zdrowotnych. Analizy statystyczne ujawniły silnie dodatnią korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną i zawartością kwasu protokatechowego (R^2 0.62-0.72), oraz pomiędzy inhibicją AChE i zawartością kwasu protokatechowego (R^2 0.91). Potwierdzono obserwacje innych autorów, że aktywność antyoksydacyjna zależy od ilości wolnych grup -OH w pierścieniu aromatycznym, położenia wiązania podwójnego i grupy -OH.

d) Po raz pierwszy udowodniono, że ekstrakty, przetwory i wyizolowane składniki hamują aktywność Hyal, AChE, BuChE i MMPs. Poziom inhibicji był uzależniony od stężenia inhibitora i jednostki aktywności enzymu, w niektórych przypadkach wykazano wyższą inhibicję niż inhibitorów referencyjnych, takich jak escyna i o-fenantrolina. Odkryto, że intrakt sporządzony z owoców *E. senticosus*, zawierający ugrupowania fenolowe, hamował aktywność hialuronidazy silniej niż escyna.

e) Wyznaczono stopień rozpuszczalności (+)-sezaminy i kwasu ursolowego, co umożliwi uniknięcie często pojawiającego się w praktyce laboratoryjnej problemu, jakim jest rozpuszczalność związków pochodzenia roślinnego. Po raz pierwszy użyto buforu 0.1M PBS pH 7.4, jako rozpuszczalnika tych związków. Zastosowanie buforu stwarza większe możliwości badawcze tych związków, szczególnie w grupie badań aktywności biologicznej *in vitro* i *in vivo*.

f) Wykazanie zależności wydajności ekstrakcji (UAE) od rodzaju i czasu przechowywania surowca. Najwyższą wydajność uzyskano dla owoców świeżo suszonych. Wysoka wydajność

ekstrakcji może wynikać ze struktury anatomicznej surowca, który zawiera mniej mechanicznie odpornych tkanek (kolenchyma, sklerenchyma), co ułatwia dyfuzję rozpuszczalników i solubilizację związków o charakterze kompleksu fenolokwasowo-flawonoidowego. Obniżenie poziomu wydajności dla surowca przechowywanego rok może być wynikiem aktywności enzymatycznej i częściowego rozkładu glikozydów polifenolowych do niepolarnych aglikonów.

g) Inkrakt z owoców *E. senticosus* może być rozpatrywany, jako potencjalny nowy produkt na rynku preparatów pochodzenia roślinnego. Jest źródłem związków polifenolowych i minerałów o właściwościach prozdrowotnych i odżywczych.

h) Profil nutrifarmaceutyczny owoców *E. divaricatus* i *E. sessiliflorus* wyznacza nowe kierunki prozdrowotnej użyteczności surowca, takie jak wzbogacanie diet w surowce bogate w błonnik i nienasycone kwasy tłuszczowe. Ze względu na bogaty skład odżywczy może mieć potencjalne zainteresowanie w grupie wegetarian i wegan.

Podsumowując, przedstawione wyniki wielokierunkowych badań stanowią cenny dowód naukowy dla określenia pozycji surowca wśród innych surowców wykazujących podobny efekt leczniczy. Przeprowadzone badania pozwoliły na wyczerpujące opracowanie zaplanowanych zagadnień dotyczących metabolitów w rodzaju *Eleutherococcus* i ich bioaktywności. Wyniki stanowią alternatywę dla surowca i preparatów sprowadzanych z Chin, często złej jakości lub zafałszowanych (około 26% preparatów sprowadzanych z Chin nie spełnia norm farmakopealnych lub jest zafałszowana *Periploca sepium*). Wykorzystanie części nadziemnych jako surowiec, chroniłoby naturalne czy uprawowe zasoby gatunków, których liczba gwałtownie się obniża w Rosji i Chinach.

4. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

4.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Działalność naukowa Autora wniosku rozpoczęła się w lutym 2008 roku, po przyjęciu na stanowisko asystenta w Katedrze i Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, pod

kierownictwem Prof. dr hab. Heleny D. Smolarz. Od początku kariery naukowej przedmiotem badań była analiza chemiczno-biologiczna gatunków *Eleutherococcus* uprawianych w Polsce (*E. senticosus*, *E. setchuenensis*, *E. sessiliflorus*, *E. gracilistylus*, *E. henryi* i *E. divaricatus*). Wyniki prac zostały opublikowane w czasopismach z IF i bez IF, jak również były prezentowane na konferencjach.

Analiza chemiczna

Jednym z celów pracy była optymalizacja układu chromatograficznego do identyfikacji eleuterozydów B, B1, E i E1 w 24 etanolowych ekstraktach otrzymanych z korzeni, owoców, liści wiosennych i jesiennych. Pomimo dostępności warunków rozdziału chromatograficznego dla powyższych związków w literaturze naukowej i farmakopeach (Polska, Europejska, Amerykańska), wykorzystanie literaturowych faz ruchomych bazujących na heptanie, eterze diizopropylowym, kwasie octowym, benzenie i chloroformie nie dało pożądanego rozdziału. Lepsze parametry rozdziału uzyskano stosując układ opracowany przez Wagner'a: chloroform-metanol-woda 70:30:4 (v/v). Istotnym problemem rozdziału było usunięcie związków interferujących z eleuterozydem B. Aby zapewnić lepszy rozdział dokonano modyfikacji układu chromatograficznego. Płytki krzemionkowe rozwijano w układzie faz: chloroform-metanol-woda 70:30:4 (v/v), a następnie w chloroform-metanol-toluen-amoniak 9:6:3:2 (v/v), [dwukrotnie w tym samym kierunku dla eleuterozydów B, E, E1]. Z kolei izofraksydynę (aglikon eleuterozydu B1) analizowano w układzie: chloroform-metanol-woda 75:25:4 (v/v), [jednokrotnie w tym samym kierunku]. Płytki RP-18W rozwijano w układzie faz: metanol-woda-kwas octowy 6:3:1 (v/v), [jednokrotnie w tym samym kierunku]. Do derywatyzacji płytek użyto odczynnik Libermann-Burchard. We wszystkich przypadkach otrzymano najlepsze wyniki rozdziału, dobrze wykształcone paski nadają się do ilościowego oznaczania denzytometrycznego. Potwierdzono skuteczność stosowania tych technik do szybkich analiz ekstraktów roślinnych. Wyniki zostały opublikowane w pracach **D4**, **D5** oraz były prezentowane na konferencjach naukowych **P6**.

Analizę ilościową eleuterozydów B, E, E1 w korzeniach przeprowadzono metodą HPTLC połączoną z denzytometrią. Oznaczenie prowadzono wobec wzorcowych roztworów eleuterozydów B, E, E1. Użyto adsorbentu niepolarnego typu RP-18W, fazę rozwijającą stanowiła mieszanina metanol-woda-kwas octowy 6:3:1 (v/v). Płytki rozwijano jednokrotnie w tym samym kierunku.

Analizując wyniki zauważono, że eleuterozydy B i E stanowią znaczny udział. Ilościowo najwięcej eleuterozydu B oznaczono w *E. henryi* (3.42 mg/g), eleuterozydu E w *E. gracilistylus* (1.3 mg/g), eleuterozydu E1 w *E. divaricatus* (0.90 mg/g). Uzyskane dane potwierdzają obecność eleuterozydów we wszystkich gatunkach uprawianych w Polsce. Ponadto, dostarczają ważnych informacji na temat zawartości eleuterozydów w *E. senticosus* (1.52 mg/g), który zawierał najmniej tych związków spośród pozostałych gatunków, ale więcej niż gatunek rosnący w stanie naturalnym (Rosja, Chiny). Największą sumaryczną ilość eleuterozydów zawierał *E. henryi* (5.52 mg/g) i ten gatunek był rozpatrywany jako potencjalne źródło biologicznie czynnych eleuterozydów. Wyniki zostały opublikowane w pracy **D6** oraz były prezentowane na konferencji naukowej **P9**.

Analiza biologiczna

Niezwykle istotnym kierunkiem badań było określenie poziomu inhibicji metaloproteinaz (MMP-1, 2, 3, 9) przez ekstrakty. Wyniki prac prowadzonych w ramach współpracy z prof. K. Grzywnowiczem (Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej) wykazały aktywność inhibicyjną ekstraktów chloroformowych wobec MMPs. Dwa gatunki, *E. gracilistylus* i *E. divaricatus*, wykazały wysoki potencjał hamujący wobec MMP-1, 3 i 9. Poziom inhibicji dla pierwszego gatunku wyniósł 74.1% (MMP-1) oraz 62.9% (MMP-3). Z kolei dla *E. divaricatus* wyniósł 39.0% (MMP-1), 52.6% (MMP-3) oraz 100% (MMP-9). Wyniki zostały opublikowane w pracy **D7** oraz były prezentowane na konferencjach naukowych **P10**, **P13**.

4.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych, inne niż stanowiące podstawę habilitacji

W październiku 2011 Habilitant został zatrudniony w Katedrze Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński, na etacie asystenta, od października 2012 na etacie adiunkta. Od października 2016 jest zatrudniony na etacie adiunkta, p.o. kierownik w Katedrze Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Bydgoszcz. Po uzyskaniu stopnia doktora, badania w dalszym ciągu koncentrowały się na analizie fitochemicznej i fitofarmakologicznej rodzaju *Eleutherococcus*. Uzupełniono i opublikowano pozostałe wyniki badań zawartych w rozprawie doktorskiej. W tym okresie powstało 10 prac oryginalnych z IF oraz 3 prace bez IF, 6 prac przeglądowych, 1 rozdział książkowy, 1 zgłoszenie patentowe.

Analiza fitochemiczna

Jednym z kierunków analizy fitochemicznej była ocena jakościowa i ilościowa olejku eterycznego (GC-MS/MS) otrzymanego z korzeni metodą destylacji z parą wodną, opisaną wg FP VII. W *E. senticosus* zidentyfikowano 69 związków, w *E. setchuenensis* 87, w *E. divaricatus* 65, w *E. gracilistylus* 72, w *E. henryi* 69, w *E. sessiliflorus* 69. Zidentyfikowano 30 związków obecnych we wszystkich gatunkach. Spośród tych związków oznaczono wysoką zawartość farnezu <E,E> (43,62-6,91%), farnezu <E,Z> (7,29-0,70%), farnezu <Z,E> (1,40-0,15%). Najwyższą zawartość farnezu <E,E> zawiera korzeń *E. divaricatus* (43,62%), farnezu <E,Z i Z,E> korzeń *E. senticosus* (7,29 i 1,40%).

Uwzględniając skład chemiczny olejku wykazano różnice międzygatunkowe. Oznaczono związki występujące tylko w pojedynczych gatunkach. Na szczególną uwagę zasługuje *E. setchuenensis*, w którym zidentyfikowano siedem, nie stwierdzonych w innych gatunkach związków, *E. henryi* zawiera sześć odrębnych związków, *E. senticosus* i *E. gracilistylus* zawierają po 5 odrębnych związków. Najmniej związków różniących badane gatunki zidentyfikowano w *E. divaricatus* i *E. sessiliflorus*. Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z10**.

Kolejnym aspektem badań było określenie całkowitej zawartości polifenoli (TPC). Całkowita zawartość polifenoli zawierała się w przedziale 6.91-11.41 mg/g w badanych korzeniach, 19.92-37.27 mg/g w liściach i 6.1-57.5 mg/g w owocach. Największą ilość stwierdzono w liściach wiosennych *E. sessiliflorus* (37.27 mg/g), *E. setchuenensis* (29.24

mg/g) i *E. divaricatus* (29.01 mg/g). Zawartość polifenoli w liściach wiosennych pozostałych gatunków wyniosła od 20.32 do 27.48 mg/g. Spośród korzeni najbogatszymi w polifenole były korzenie *E. senticosus* (11.41 mg/g) i *E. sessiliflorus* (10.60 mg/g). Najmniejszą ilość oznaczono w korzeniach *E. henryi* (7.19 mg/g), *E. setchuenensis* (7.06 mg/g) i *E. divaricatus* (6.91 mg/g). Uwzględniając owoce, najmniej polifenoli (6.1 mg/g) oznaczono w owocach *E. divaricatus*, najwięcej (57.5 mg/g) w owocach *E. senticosus*. Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z1** i **Z13**.

W ramach współpracy z dr hab. Renatą Nowak (Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie) określono skład kwasów fenolowych i flawonoidów w naparach i nalewkach sporządzonych z płatków kwiatu, pseudoowoców, nasion, liści i korzeni *Rosa rugosa* (Thunb.). W grupie kwasów fenolowych, kwas galusowy oznaczono w największej ilości dla wszystkich badanych surowców i przetworów (0.1-11.1 µg/mg DE). Surowcem najbogatszym były płatki kwiatów (11.1 µg/mg DE). W grupie flawonoidów, nalewki z liści i płatków kwiatów charakteryzowały się największą zawartością izokwercytryny (2.2 i 1.5 µg/mg DE) i hiperozydu (1.5 i 0.8 µg/mg DE). Nalewka z liści zawierała najwięcej izokwercytryny spośród innych przetworów (2.2 µg/mg DE). Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z14**.

Analiza fitobiologiczna

Jednym z ważniejszych osiągnięć było wykazanie hamującego wpływu ekstraktów na rozwój zarodników *Nosema apis* i *Nosema ceranae* w pszczole miodnej (współpraca z dr hab. Anetą Ptaszyńską, Zakład Botaniki i Mykologii, Uniwersytet Marie Curie-Skłodowskiej, Lublin). Ze względu na ochronę patentową, gatunki roślin i surowce nie mogą być wymienione. Nosemoza jest chorobą zakaźną pszczół, którą wywołują grzyby z rodzaju *Nosema*. Ma charakter inwazyjny i powoduje tzw. „zespół masowego giniecia rodzin pszczelich”. Szczególnie niebezpieczna stała się na przestrzeni ostatnich lat, stwarzając poważny problem związany z utrzymaniem zdrowych populacji pszczół. W tym celu określono wpływ różnych ekstraktów z różnych gatunków na przeżywalność pszczół sztucznie zakażanych *Nosema apis* i *Nosema ceranae*. Wykazano wysoki poziom terapeutyczny zakażeń pszczół miodnych, ekstrakty skutecznie obniżały ilość zarodników, niektóre eliminowały zarodniki w 100%. Zauważono wpływ na wzmocnienie układu odpornościowego pszczół, wyrażonego wzrostem aktywności oksydazy polifenolowej.

W testach kontrolnych wykazano brak wpływu ekstraktów na przeżywalność pszczoł, jak również na zmniejszenie ilości pobieranego pokarmu, co świadczy o braku działania toksycznego. Wyniki pionierskich badań zostały ujęte w **zgłoszeniu patentowym nr P.415155**.

W dalszych badaniach określono cytotoksyczność ekstraktów wobec ludzkich linii białaczkowych (HL-60, Jurkat 45). Posługując się testem z błękitem trypanu, wyznaczono współczynnik IC_{50} (ang. Inhibitory Concentration), czyli takie stężenie stymulatora przy którym 50% komórek ulega śmierci. Stymulację prowadzono przez 24 godziny stosując różne stężenia stymulatorów [2-600 $\mu\text{g/ml}$]. Największą cytotoksyczność wykazał ekstrakt chloroformowy z korzenia *E. senticosus*, ekstrakty etanolowe z korzeni *E. sessiliflorus*, liści wiosennych *E. divaricatus*, owoców świeżych *E. sessiliflorus*. Dla tych gatunków uzyskano odpowiednio następujące wartości IC_{50} : 2.8; 22; 199.7; 191.5 $\mu\text{g/ml}$.

W drugim etapie badań podjęto próbę określenia mechanizmu działania ekstraktów na komórki nowotworowe. Wyniki analiz dały odpowiedź na pytanie czy ekstrakty działają na komórki cytotoksycznie poprzez włączanie procesu apoptozy, nekrozy czy obydwu jednocześnie. Posłużono się testem z aneksyną V znakowaną FITC i jodkiem propidyny. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że udział komórek wczesnoapoptotycznych dla wszystkich ekstraktów mieścił się w zakresie 27-37%. Największy oznaczono dla etanolowego ekstraktu z korzenia *E. sessiliflorus*, a najmniejszy dla ekstraktu z liści wiosennych *E. henryi*. Procent komórek późnoapoptotycznych i nekrotycznych we wszystkich badaniach nie przekraczał 17. Zmiany te świadczą o umieraniu komórek na drodze apoptozy. Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z8** i **Z13**.

Kolejnym celem pracy było sprawdzenie, czy ekstrakty mają zdolność usuwania wolnych rodników. We współpracy z dr hab. U. Gawlik-Dziki (Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie) określono właściwości antyoksydacyjne. Dokonano tego poprzez ustalenie stopnia redukcji syntetycznego rodnika DPPH*, stopnia peroksydacji kwasu linolenowego i zdolności chelatowania jonów Fe^{2+} .

Największą zdolność redukcji DPPH* posiadał ekstrakt z liści *E. senticosus* dla którego wartość EC_{50} wyniosła 1.16 mg/ml. Z kolei ekstrakty etanolowe z korzenii *E. gracilistylus* najsilniej hamowały utlenianie lipidów (EC_{50} 0.71 mg/ml). Wszystkie gatunki wykazały zdolność chelatowania jonów Fe^{2+} . Na uwagę zasługują ekstrakty z liści

wiosennych *E. setchuenensis* (EC₅₀ 0.31 mg/ml). Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z1** i **Z13**.

W ramach współpracy z dr hab. Irmą Podolak i dr Karoliną Grabowską (Katedra Farmakognozji, Uniwersytet Jagielloński), zmodyfikowaną przez Autora metodę oznaczania aktywności hialuronidazy, zastosowano do określenia wpływu metanolowych ekstraktów (liście i łodygi *Chenopodium hybridum* L., liście świeże i suszone *Impatiens parviflora* DC), chloroformowego ekstraktu (suszone liście *Impatiens parviflora* DC) i izolatów (mono- i digalaktolipid z liści suszonych *Impatiens parviflora* DC) na aktywność hialuronidazy. Po raz pierwszy wykazano, że galaktolipidy hamują Hyal, potwierdzając jednocześnie słuszność ich stosowania w chorobach zwyrodnieniowych stawów. Wyniki badań zostały opublikowane w pracach **Z11** i **Z12**.

W ramach współpracy z dr hab. Renatą Nowak (Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie) oznaczono aktywność antyoksydacyjną naparów i nalewek sporządzonych z płatków kwiatu, pseudoowoców, nasion, liści i korzeni *Rosa rugosa* (Thunb.). Ponadto wykazano wpływ przetworów na aktywność Hyal i AChE. Najwyższą zdolność antyoksydacyjną (TEAC) wykazały nalewki i napary z korzeni (3.2 i 4.25 mmol Trolox/g). Z kolei nalewki z korzeni i napary z liści najsilniej hamowały Hyal dla wartości IC₅₀ 0.6 i 0.8 mg/ml, odpowiednio. Uwzględniając inhibicję AChE, najwyższy procent zahamowania wykazały napary z płatków kwiatu i nalewki z pseudoowoców (61.6 i 38.3%). Przedstawione wyniki są pierwszymi, które podają naukowe dowody właściwości hamujących *Rosa rugosa* wobec Hyal. Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z14**.

Wynikiem współpracy z dr hab. Anną Bogucką-Kocką (Katedra i Zakład Biologii z Genetyką, Uniwersytet Medyczny w Lublinie) było określenie zawartości alkaloidów (sanguinaryna, berberyna, protopina, chelidonina) w *Dicentra spectabilis* (L.) Lem., *Fumaria officinalis* L., *Glaucium flavum* Crantz, *Corydalis cava* L., *Berberis thunbergii* DC., *Meconopsis cambrica* (L.) Vig., *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt., *Macleaya cordata* Willd., and *Chelidonium majus* L., stosując technikę UPLC-MS/MS. Wykazano, że *M. cordata* zawiera najwięcej protopiny spośród analizowanych gatunków (5463.6 µg/g). Najwyższą zawartość chelidoniny i sanguinaryny określono w *C. majus* (51040 i 7925.8 µg/g), podczas gdy *B. thunbergii* zawierał najwięcej berberyny (6358.4 µg/g). Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z15**. Przedmiotem kolejnego celu badawczego, w ramach powyższej współpracy,

było określenie cytotoksycznego wpływu 20 kumaryn na ludzkie linie białaczkowe [CEM/C1, CCRF/CEM, HL-60, HL-60/MX1, HL-60/MX2] oraz na ekspresję genów MDR1, MRP1 i BCRP. Na podstawie analizy wyników, stwierdzono, że felopteryna była najbardziej aktywna wobec linii CEM/C1 (IC_{50} 8 μ M), biakangelicyna wobec CCRF/CEM i HL-60/MX1 (IC_{50} 5.5 i 8 μ M), 4-metylo-7-etoksykumaryna wobec HL-60 (IC_{50} 10 μ M), izopimpinelinea wobec HL-60/MX2 (IC_{50} 26 μ M). W próbie kumaryny i mitoksantron, wykazano, że felopteryna była najbardziej aktywna wobec linii CEM/C1 (IC_{50} 10.5 μ M), izopimpinelinea wobec CCRF/CEM (IC_{50} 10.5 μ M), 4-metylo-7-metoksykumaryna wobec HL-60 (IC_{50} 8.2 μ M), heraklenina wobec HL-60/MX1 (IC_{50} 16 μ M), biakangelicyna i bergapten wobec HL-60/MX2 (IC_{50} 23 μ M). Klastry utworzone w oparciu o ekspresję genów, pozwoliły na podział analizowanych związków na dwie grupy. Pierwsza obejmuje pochodne furanokumaryn, druga pochodne kumaryn. Wskazuje to na inne mechanizmy przeciwnowotworowego działania tych związków, co potwierdziły badania genetyczne (analiza ekspresji genów kodujących białka nadrodziny ABC). Wyniki zostały opublikowane w pracy **Z17**.

4.3. Dalsze plany naukowo-badawcze

Istotnym problemem, jaki będzie realizowany w dalszej pracy naukowej, to poszukiwanie bezpiecznych rozpuszczalników, z grupy tzw. *green chemistry*, w celu ekstrakcji związków obecnych w *Eleutherococcus* i ich stosowania w badaniach *in vivo*. Zostaną zastosowane rozpuszczalniki będące mieszaniną metabolitów pierwotnych, obecnych w każdej żywej komórce, które tworzą tzw. system NADES (ang. Natural Deep Eutectic Solvents). Plany naukowe Autora koncentrować się będą na badaniach przetworów galenowych i izolatów w modelu *in vivo*. W pierwszym etapie zostanie sprawdzona hepatotoksyczność, hepatoprotekcja, wpływ na parametry krwi. Zostaną podjęte próby introdukcji gatunku wykazującego optymalną aktywność farmakologiczną do gospodarki uprawowej i nawiązanie współpracy z plantatorami surowców zielarskich.

4.4. Pozostałe publikacje

a) Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

D1. Załuski D., Smolarz H.D., *Eleutherococcus senticosus* - przykład rośliny adaptogennej. Postępy Fitoterapii 2008; 4, 239 - 245. (MNiSW 4 pkt.).

D2. Załuski D., Smolarz H.D., Plant inhibitors of metalloproteinases and the possibility of their application in the prevention of photoaging. Annales UMCS Sectio DDD 2009; 22 (2), 89 – 96. (MNiSW 4 pkt.).

D3. Załuski D., Selected biochemical processes of skin photoaging. Cosmetology Today 2009; 2; 36 - 51.

D4. Załuski D., Smolarz H.D., Chomicki A., TLC sreening for eleutherosides B, E, and E1, and isofraxidin in the roots of six *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. Acta Chromatographica 2010; 22 (4), 581 – 589. IF 0.779. (MNiSW 13 pkt.).

D5. Załuski D., Smolarz H.D., Szpilewska M., Eleutherosides in aerial parts of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. Dietary Supplements; JAOAC 2011; 94(5), 1-5. IF 1.199. (MNiSW 27 pkt.).

D6. Cieśla Ł., Załuski D., Smolarz H.D., Hajnos M., Waksmundzka - Hajnos M. HPTLC – densitometric method for determination of eleutherosides B, E and E1 in different *Eleutherococcus* species. Journal of Chromatography Science 2011; 49 (3), 182-188. IF 0.884. (MNiSW 20 pkt.).

D7. Grzywnowicz K., Załuski D., Walczyński T., Prendecka M., Smolarz H., Natural inhibitors of metalloproteinases from fungi and herbs – New bioactive extracts of pharmacological potential. Annales UMCS Sectio DDD 2010; 23 (2), 41 – 45. (MNiSW 9 pkt.).

b) Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Z1. Załuski D., Smolarz H.D., Gawlik-Dziki, U., Bioactive compounds and antioxidative, antileukemic and anti-MMPs activity of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. Natural Product Communications, 2012; 7(11), 1483 - 6. IF 0.956. (MNiSW 20 pkt.).

Z2. Załuski D., Janeczko Z., Eleutherosides. Their structure, biological properties and medical activity. Postępy Fitoterapii 2013; 2, 118 - 122. (MNiSW 5 pkt.).

Z3. Załuski D., Janeczko Z., Essential oil in species of *Eleutherococcus* Maxim. genus. Aromatherapy 2013; 2 (72), 15 - 26.

Z4. Załuski D., Inhibitors of hyaluronidases and their potential use in cosmetic formula. Dzienniki Naukowe – Almamer, 2013; 3(69), 45-58. (MNiSW 5 pkt.).

Z5. Bogucka-Kocka A., Och A., Och M., Kubrak T., Kocki J., **Załuski D.**, Alkaloids found in everyday life as compounds with anticancer properties. Dzienniki Naukowe – Almamer, 2014; 1(70), 295-308. (MNiSW 7 pkt.).

Z6. Karwat J., Kotuła L., Gil-Kulik P., Niedojadło A., Och A., Och M., Sawiuk M., Kocki J., Bogucka-Kocka A., **Załuski D.**, GMO - the consciousness of residents of Lublin and the surrounding area. Dzienniki Naukowe – Almamer, 2014; 1(70), 319-328. (MNiSW 7 pkt.).

Z7. Kuźniewski R., Krzyżyńska-Malinowska E., Balcerek M., Modnicki D., **Załuski D.**, Natural raw materials in the therapy and prophylaxis of psoriasis. Dzienniki Naukowe – Almamer, 2014; 2(71), 43-44. (MNiSW 7 pkt.).

Z8. Załuski D., Smolarz H.D., Bogucka-Kocka A., Cytotoxic activity of ethanolic extracts of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland on HL60 leukemia cell line. Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, 2014; 27(1), 41-45. (MNiSW 7 pkt.).

Z9. Kuźniewski R., Olszewska-Słonina D., Drewa G., **Załuski D.**, The activity of acid phosphatase in blood of men with diagnosed melanocarcinoma of the skin. Initial reports. Dzienniki Naukowe – Almamer, 2015; 1(74), 29-40. (MNiSW 5 pkt.).

Z10. Załuski D., Smolarz H.D., Influence of Polish climate conditions on content and the chemical variation of volatiles in the roots of six *Eleutherococcus* species and their potential use. Records of Natural Products, 2016; 10(2), 240-244. IF 0.859. (MNiSW 20 pkt.).

Z11. Grabowska K., Podolak I., Galanty A., **Załuski D.**, Makowska-Wąs J., Sobolewska D., Janeczko Z., Żmudzki P., In vitro anti-denaturation and antihyaluronidase activities of extracts and galactolipids from leaves of *Impatiens parviflora* DC. Natural Product Research, 2016; 30(10), 1219-1223. IF 1.828. (MNiSW 20 pkt.).

Z12. Podolak I., Olech M., Galanty A., **Załuski D.**, Grabowska K., Sobolewska D., Michalik M., Nowak R., Flavonoid and phenolic acid profile by LC-MS/MS and biological activity of crude extracts from *Chenopodium hybridum* aerial parts. Natural Product Research, 2016; 30(15), 1766-1770. IF 1.828. (MNiSW 20 pkt.).

Z13. Załuski D., Smolarz H.D., TLC profiling, nutritional and pharmacological properties of Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) cultivated in Poland. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016; 29(5), 1497-1502. IF 0.581. (MNiSW 15 pkt.).

Z14. Olech M., Nowak R., **Załuski D.**, Kapusta I., Amarowicz R., Oleszek W., Hyaluronidase, acetylcholinesterase inhibiting potential, antioxidant activity and LC-ESI-

MS/MS analysis of polyphenolics of rose (*Rosa rugosa* Thunb.) teas and tinctures. International Journal of Food Properties, 2017; 20(1), S16-S25. **IF 1.427. (MNiSW 25 pkt.).**

Z15. Och A., Szewczyk K., Pecio Ł., Stochmal A., **Załuski D.**, Bogucka-Kocka A., UPLC-MS/MS profile of alkaloids with cytotoxic properties of selected medicinal plants of *Berberidaceae* and *Papaveraceae* families. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017; 1-7. **IF 4.593. (MNiSW 30 pkt.).**

Z16. Strzemeski M., Wójciak-Kosior M., Sowa I., **Załuski D.**, Szwerc W., Sawicki J., Kocjan J., Feldo M., Dresler S., *Carlina vulgaris* L. as a source of phytochemicals with antioxidant activity. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017; 1-10. **IF 4.593. (MNiSW 30 pkt.).**

Z17. Kubrak T., Bogucka-Kocka A., Komsta Ł., **Załuski D.**, Bogucki J., Gałkowski D., Kaczmarczyk R., Feldo M., Cioch M., Kocki J., Modulation of multidrug resistance gene expression by coumarin derivatives in human leukemic cells. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017; 1-13. **IF 4.593. (MNiSW 30 pkt.).**

Z18. Modnicki D., Balcerek M., **Załuski D.**, Gatunki roślin z rodzaju *Sisymbrium* L. - znaczenie kosmetyczne i lecznicze. Polish Journal of Cosmetology, 2017; 20(3), 217-221. **(MNiSW 7 pkt.).**

Z19. Kuźniewski R., **Załuski D.**, Olech M., Banaszczyk P., Nowak R., LC-ESI-MS/MS profiling of phenolics in the leaves of *Eleutherococcus senticosus* cultivated in the West Europe and anti-hyaluronidase and anti-acetylcholinesterase activities. Natural Product Research, 2018; 32(4), 448-452. **IF 1.828. (MNiSW 20 pkt.).**

c) Monografie i rozdziały książkowe

M1. Rozdział książkowy: **Załuski D.**, Cieśla Ł., Janeczko Z. „The Structure-activity relationships of plant secondary metabolites with antimicrobial, free radical scavenging and inhibitory activity towards selected enzymes". A chapter book in „Studies in Natural Product Chemistry (*Bioactive Natural Products*)" edited by Prof. Atta-ur Rahman; Elsevier Science Publishers, Amsterdam, the Netherlands. Volume 45, 2015, pp. 217-249. **(MNiSW 5 pkt.).**

4.5. Konferencje krajowe i międzynarodowe

Prezentacje ustne

P1. *Eleutherococcus* spp. as a potential inhibitors of matrix metalloproteinase. **Daniel Załuski**, XLV Annual Meeting of the Polish Biochemical Society. Wisła, 20-23.IX.2010.

P2. Medicinal properties of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. **Daniel Załuski**, The 1st National Conference on Science and Training „Polish collections of medicinal plants as a source of research material.” Lublin, 10-11.VI.2011.

P3. A new potential inhibitors of MMP-1 and MMP-9 isolated from the roots of *Eleutherococcus divaricatus*. **Daniel Załuski**, The 2nd Polish Congress of Biochemistry and Cell Biology. Krakow, 5-9.IX.2011.

P4. Inhibitors of AChE and BuChE in *Eleutherococcus lasiogyne* (Harms) S.Y. Hu and their antiradical activity. **Daniel Załuski**, The 2nd International Conference and Workshop: Plant-the source of research material. Lublin, 18-20.X.2012.

P5. Essential oil in the fruits of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Rupr. **Daniel Załuski**, The 5th Symposium on Natural and Synthetic Products in Cosmetology and Aromatherapy. Łódź, 27-29 VI.2012.

Sesje posterowe

P6. Searching eleutherosides as a biologically active compounds in selected species of *Eleutherococcus*. **Daniel Załuski**, Helena Danuta Smolarz, Monika Szpilewska, Symposium: "Modern techniques in the evaluation of natural drugs". Lublin, 24-25 IX.2009.

P7. The influence of extracts from selected species of the *Eleutherococcus* Maxim. genus on cell lines of human leukemia HL - 60. Helena Danuta Smolarz, **Daniel Załuski**, Anna Bogucka-Kocka, Ewelina Maślanka, Symposium: "Modern techniques in the evaluation of natural drugs". Lublin, 24-25 IX.2009.

P8. Analysis of antioxidant properties of alcoholic extracts from the selected species of the *Araliaceae* and *Crasullaceae* family. Katarzyna Szewczyk, **Daniel Załuski**, Helena D. Smolarz, Magdalena Wegiera, XXI Scientific Meeting of the Polish Pharmaceutical Society: Polish Pharmacy against the European Union. Gdańsk, 12-15.IX.2010.

P9. HPTLC-densitometric method for determination of eleutherosides B, E and E₁ in different *Eleutherococcus* **species**. Łukasz Cieśla, **Daniel Załuski**, Helena D. Smolarz, Michał Hajnos, Monika Waksmundzka-Hajnos, 7th International Symposium on Chromatography of Natural Products. 6th International Symposium of the International Society for the Development of Natural Products. Lublin, June 14-17, 2010.

P10. Natural inhibitors of metalloproteases from fungi - new bioactive substances of pharmacological potential. K. Grzywnowicz, T. Walczyński, **Daniel Załuski**, M. Jaszek, Helena Smolarz, 7th International Symposium on Chromatography of Natural Products. 6th

International Symposium of the International Society for the Development of Natural Products. Lublin, June 14-17, 2010.

P11. Comparison of antileukemic activity of the extracts from the leaves of selected species from the *Rumex* and *Eleutherococcus* genus. Magdalena Wegiera, **Daniel Załuski**, Helena D. Smolarz, Anna Bogucka-Kocka, Katarzyna Szewczyk, XXI Scientific Meeting of the Polish Pharmaceutical Society: Polish Pharmacy against the European Union. Gdańsk, 12-15.IX.2010.

P12. The identification of essential oil component in the roots of *Eleutherococcus* spp. by GC-MS/MS. **Daniel Załuski**, Helena D. Smolarz, 7th International Symposium on Chromatography of Natural Products. 6th International Symposium of the International Society for the Development of Natural Products. Lublin, June 14-17, 2010.

P13. Natural inhibitors of MMP – 2 and MMP – 3 from the fruits of *Eleutherococcus senticosus*. **Daniel Załuski**, Helena D. Smolarz, Acta Bioch. Pol. 2011, The 2nd Polish Congress of Biochemistry and Cell Biology. Krakow 5 – 9, 2011.

P14. Antileukemic activities of extracts from the roots of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. **Daniel Załuski**, Helena D. Smolarz, Acta Bioch. Pol. 2011, The 2nd Polish Congress of Biochemistry and Cell Biology. Krakow 5 – 9, 2011.

P15. HPTLC identification of eleutherosides B, E, E1 and antioxidant properties of *Eleutherococcus giraldii* and *Eleutherococcus lasiogyne* cultivated in polish climate conditions. **Daniel Załuski**, Helena Danuta Smolarz, Iwona Zawadzka, The 8th International Symposium on Chromatography of Natural Products. Lublin, May 17-20, 2012.

P16. HPTLC identification of eleutherosides in *E. lasiogyne* (Harms) S.Y.Hu, their biological activity and the relationship between their structure and antioxidative potency. **Daniel Załuski**, International Mini-Symposium Quality of fresh produce, herbs and vegetables – from field to fork., Poland Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Warsaw, IX.18-19, 2013.

P17. Selected medicinal plants in the treatment of infectious diseases of the skin. Rafał Kuźniewski, **Daniel Załuski**, Maciej Balcerek, The 3rd International Conference and Workshop: Plant – the source of research material. Lublin, 16-18.2013.

P18. GC/MS analysis of fatty acids in the fruits of *Eleutherococcus divaricatus* (Siebold.&Zucc.) S.Y. Hu and *Eleutherococcus sessiliflorus* (Rupr.& Maxim.) S.Y. Hu cultivated in Poland and their proximate composition. **Daniel Załuski**, Karolina Grabowska, Justyna Makowska-Wąs, Zbigniew Janeczko, Rafał Kuźniewski, The 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products. The application of analytical methods for the development of natural products. Lublin, Poland, 5. 26-29. 2014.

P19. HPTLC-identification of eleutheroside E1 in *Eleutherococcus giraldii* (Harms) Nakai cultivated in Poland, its anti-hyaluronidase, antiradical activity, and LC/MS PAMPA test. **Daniel Załuski**, Irma Podolak, Agnieszka Galanty, Zbigniew Janeczko, The 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products. The application of analytical methods for the development of natural products. Lublin, Poland, 5. 26-29. 2014.

P20. LC-ESI-MS/MS profile of phenolic acids in *Chenopodium hybridum* L. Irma Podolak, Marta Olech, Renata Nowak, Agnieszka Galanty, **Daniel Załuski**, The 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products. The application of analytical methods for the development of natural products. Lublin, Poland, 5. 26-29. 2014.

P21. Coumarin-dependent apoptosis in acute myeloid leukemia cells. Anna Bogucka-Kocka, Tomasz kubrak, Maria Cioch, Marcin Czop, Michał Woźniak, **Daniel Załuski**, Janusz Kocki The 4th International Conference and Workshop: Plant – the source of research material. Lublin, Poland, 20-23.09.2015.

P22. Biological activity of polysaccharides from selected mushrooms growing wild in Poland. Natalia Nowacka, Marta Drozd, **Daniel Załuski**, Renata Nowak, The 4th International Conference and Workshop: Plant – the source of research material. Lublin, Poland, 20-23.09.2015.

P23. Wpływ wybranych pochodnych ksantonu na sekrecję insuliny w modelu in vitro. Agnieszka Wojtanowska-Krośniak, Anna Waszkielewicz, Monika Papież, **Daniel Załuski**, Paweł Zagrodzki. V Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Kraków 28-29.05.2015.

P24. Chemical compounds and bioactivity of the *Eleutherococcus senticosus* fruits intractum **Załuski D**, Olech M., Galanty A., Verpoorte R., Kuźniewski R., Nowak R., Bogucka-Kocka A., Plant - the source of research material, 5th International Conference and Workshop, Lublin, 21-24.06.2017.

4.6. Kierowanie krajowymi projektami naukowymi i udział w projektach

Kierownik projektu “Inkubator Innowacyjności+” (Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, MNiSW; 2018). Typ konkursu: Wnioski o objęcie wsparciem przedwdrożeniowym. Tytuł wniosku: “Metoda wytwarzania i potencjalna aktywność adaptogenna preparatu AdaptES”. Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Kierownik projektu (Miniatura-1, NCN; 2017-2018): “Ocena ilościowa eleuterozydów i flawonoidów w intrakcie z owoców *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., działanie cytotoksyczne, hepatoprotective i adaptogenne.” Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Wykonawca projektu “Inkubator Innowacyjności” (konsorcjum Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej i Katolickiego Uniwersytetu Jana Pawła II w Lublinie; 2017), w ramach projektu pozakonkursowego „Wsparcie zarządzania badaniami naukowymi i komercjalizacja wyników prac B+R w jednostkach naukowych i przedsiębiorstwach”, w

ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 (Działanie 4.4). Typ konkursu: Wnioski o objęcie wsparciem przedwdrożeniowym. Tytuł wniosku: "Preparaty roślinne do zastosowania w leczeniu nosemozy u pszczoł".

Kierownik projektu (Projekty celowe; MNiSW; 2016): „Aktywność nutri-farmakologiczna *Eleutherococcus* spp.” Nr K/DSC/003528, Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński.

Kierownik projektu (Projekty celowe; MNiSW; 2013-2015): "Inhibitory hialuronidazy (Hyl) w *Eleutherococcus senticosus* i *Eleutherococcus divaricatus* jako nowe kierunki działania adaptogenów i metoda ich pozyskiwania". Nr K/DSC/001408, Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński.

Wykonawca projektu finansowanego ze środków UE (2010-2011): "Nowe kierunki dla personelu medycznego-kurs języka angielskiego". UDA POKL.04.01.01-00-375/08-00. Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie.

Współautor i wykonawca projektu finansowanego ze środków UE (2009-2012): "Wyposażenie innowacyjnych laboratoriów prowadzących badania nad nowymi lekami stosowanymi w terapii chorób cywilizacyjnych i nowotworowych". POPW.01.03.00-06-013/09-03. Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie.

4.7. Staże, wyjazdy zagraniczne

11-15.07.2017; staż w ramach programu Erasmus+ w Natural Products Laboratory, Leiden University, Holandia; Mentor: Prof. Rob Verpoorte.

01.01.2015-31.08.2015; Laureat programu SKILLS-Mentoring (Fundacja na rzecz Nauki Polskiej), Natural Products Laboratory, Leiden University, Holandia; Mentor: Prof. Rob Verpoorte.

4.8. Recenzje projektów badawczych, panele eksperckie

1. Narodowe Centrum Badań i Rozwoju:

2018 - Ekspert: recenzje 2 projektów w zakresie poddziałania 1.1.1. PO IR: Szybka Ścieżka.

2017 – Ekspert: recenzje 3 projektów w zakresie działania 1.2 PO IR „Sektorowe programy B+R” Program sektorowy: INNONEUROPHARM.

2015 - Ekspert rozstrzygający: recenzja 1 projektu w zakresie działania 1.4 Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka „Wsparcie projektów celowych”.

2014 - Ekspert opiniodawczy: recenzje 3 projektów w zakresie działania 1.4 Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka „Wsparcie projektów celowych”.

2. Ekspert w Ośrodek Przetwarzania Informacji-Państwowy Instytut Badawczy; ocena projektów w ramach Działania 4.2. PO IR.

4.9. Wyróżnienia i nagrody wynikające z prowadzenia badań naukowych

a) Nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Nagroda Zespołowa II° za osiągnięcia naukowo-badawcze w 2016r.

b) Ocena wyróżniająca w okresowej ocenie pracowników naukowych UJ za okres 2014-2015 przez kierownika Katedry Farmakognozji prof. Zbigniewa Janeczko.

4.10. Udział w kursach i szkoleniach

a. Szkolenie z zakresu oceny wniosków w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój, Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, Warszawa 25.01.2018.

b. Szkolenie z zakresu oceny wniosków w ramach POIR2014-2020 poddziałanie 1.1.1 Szybka Ścieżka w obszarze kryteriów naukowo-technologicznych oraz gospodarczo-biznesowych. Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, Warszawa 19.05.2017.

c. “Training for scientific workers of Faculty of Pharmacy on the field of interpretation the results obtained in the innovative spectral techniques (UV, FTIR, MS, Raman, NMR)”- Laboratorium Analiz Spektralnych, Uniwersytet Marii Curie - Skłodowskiej, Lublin, 5-7.02.2013.

d. Szkolenie “Ochrona własności intelektualnej” – Centrum Innowacji, Transferu Technologii i Rozwoju Uniwersytetu, Kraków, 28.03.2012.

e. Szkolenie “Kontakt z mediami” – Centrum Innowacji, Transferu Technologii i Rozwoju Uniwersytetu, Kraków, 06.06.2012.

f. Obsługa zestawu do elektroforezy kapilarnej, Uniwersytet Medyczny, Lublin, 04.2011.

g. Szkolenie z obsługi zestawu do przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikiem (ASE), Uniwersytet Medyczny, Lublin, 15.12.2010.

h. Obsługa zestawu do densytometrii firmy CAMAG, Uniwersytet Medyczny, Lublin, 12.12.2010.

i. Kurs doskonalący “Charakterystyka Białek: elektroforeza SDS PAGE i „western blotting”, Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej NR 1-700/0-52-002-2010, Warszawa, 11-13.10.2010.

j. Kurs Chromatografii Cieczowej Katedra Chemii, Uniwersytet Medyczny, Lublin, 15-19.09.2008.

k. Szkolenie "Obsługa i utrzymanie systemu HPLC (UPLC) firmy Waters Corp"- Warszawa, 29.09.2008.

4.11. Współpraca naukowa

a. Natural Products Laboratory, Leiden University, Holandia, (praca potwierdzona publikacją **H-3, H-7, H-8**).

b. Department of Pharmacy, Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Peshawar, Pakistan, (praca potwierdzona publikacją **H-8**).

c. Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny, Lublin, (praca potwierdzona publikacjami **H-3, H-4, H-6, H-7, Z1, Z10, Z12, Z13, Z15**).

d. Katedra i Zakład Biologii z Genetyką, Uniwersytet Medyczny, Lublin (praca potwierdzona publikacjami **H-3, Z5, Z6, Z8, Z15, Z17**).

e. Zakład Chemii Fizycznej, Uniwersytet Medyczny, Lublin, (praca potwierdzona publikacją **D4**).

f. Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Marii Curie - Skłodowskiej, Lublin, (praca potwierdzona publikacją **D7**).

g. Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin, (praca potwierdzona publikacją **Z1**).

h. Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny, Lublin, (praca potwierdzona publikacją **H-1, D6**).

i. Zakład Botaniki Ogólnej i Mikologii, Uniwersytet Marii Curie - Skłodowskiej, Lublin, (praca potwierdzona zgłoszeniem patentowym).

j. Zakład Biologii Środowiskowej i Apidologii, Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin, (praca potwierdzona zgłoszeniem patentowym).

4.12. Patenty i transfer wiedzy z organizacji naukowo-badawczych do przedsiębiorstw

2015 - Zgłoszenie patentowe, Urząd Patentowy RP; P.415155

“Preparaty roślinne do stosowania w leczeniu nosemozy pszczoł i poprawy ich odporności”

Komercjalizacja wyników badań we współpracy z polską firmą produkującą leki weterynaryjne (nazwa i dane firmy chronione umową poufności, ze względu na trwającą procedurę wdrożeniową). W celu przeprowadzenia badań przedwdrożeniowych uzyskano finansowanie, w ramach konkursu: Wnioski o objęcie wsparciem przedwdrożeniowym - “Inkubator Innowacyjności” (konsorcjum Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej i Katolickiego Uniwersytetu Jana Pawła II w Lublinie; 2017).

4.13. Udzielone recenzje w czasopismach międzynarodowych

W latach 2014-2017 wykonałem 48 recenzji artykułów dla czasopism z listy filadelfijskiej:

- Natural Product Research (7)
- Chemistry Central Journal (1)
- Pharmaceutical Biology (1)
- Austin Chromatography (5)
- Journal of Planar Chromatography (2)
- Metalloproteinases in Medicine (1)
- Annals of Chromatography and Separation Techniques (5)
- Journal of Pharmacy and Pharmacology (1)
- Sarhad Journal of Agriculture (1)
- Journal of Agricultural and Food Chemistry (1)
- Journal of Agricultural Science and Technology A/Journal of Agricultural Science and Technology B (10)
- International Journal of Biochemistry Research&Review (1)
- Phytochemistry Letters (1)
- Phytochemistry Reviews (1)
- Clinical Phytosicence (6)
- Journal of AOAC International (1)
- Journal of Applied Life Sciences International (2)
- Saudi Pharmaceutical Journal (1)

4.14. Recenzowanie rozpraw doktorskich i udział w komisjach egzaminacyjnych

2016 - Recenzent zewnętrzny (External Examiner) rozprawy doktorskiej „Investigations of secondary metabolites of *Gymnosporia royleana*: phytochemical and pharmacological studies”, Department of Pharmacy, Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Peshawar, Pakistan.

4.15. Członkostwo w radach naukowych czasopism

Austin Chromatography Journal (USA)

Annals of Chromatography and Separation Techniques (USA)

Journal of Pharmacy and Pharmacology (USA)

Reactive Oxygen Species Journal (USA)

4.16. Członkostwo w Komitecie naukowym konferencji

5th International conference and workshop: “Plant - the source of research material”. Lublin 21-24.06.2017

5. Inne funkcje

Członek zespołu “Tenure Review Panel Member”, Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, University of Malakand, Pakistan. Funkcje: okresowa ocena działalności naukowej jednostki przez recenzentów pochodzących z krajów rozwiniętych technologicznie.

6. Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Od początku pracy Autor czynnie uczestniczy w prowadzeniu zajęć dydaktycznych na kierunkach Farmacja i Kosmetologia (wykłady, ćwiczenia, seminaria), jak również w opracowywaniu sylabusów. W roku 2012 Autor prowadził zajęcia w ramach kursu Herbal Medicine dla studentów IV roku programu 6-letniego Szkoły Medycznej dla Obcokrajowców prowadzonego w języku angielskim (temat zajęć: Lek roślinny stosowany w dermatologii). W latach 2014-2015 w ramach studiów podyplomowych, kierunku Uprawa i wykorzystanie roślin zielarskich i alternatywnych, realizowanych w Zakładzie Szczegółowej Uprawy Roślin, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Autor prowadził wykłady z tematyki roślin adaptogennych oraz surowców saponozydowych (przedmiot: Substancje czynne ziół). Autor opracował dwa wykłady w ramach kształcenia podyplomowego farmaceutów, e-edukacja, Izba Aptekarska w Krakowie (Farmakologicznie aktywne substancje stosowane jako dodatki dietetyczne; Ekstrakty i preparaty roślinne stosowane w chorobach układu ruchu).

Promotorstwo i opieka nad naukowymi pracami studentów

Opiekun naukowy 6 i promotor 12 prac magisterskich, promotor 12 prac licencjackich wykonanych przez studentów kierunku farmacja i kosmetologia.

Udział w opiece nad studentami Erasmus i studenckimi kołami naukowymi

- Opiekun naukowy “Studenckiego Koła Naukowego Farmakognozji”; od 2018, Katedra i Zakład Farmakognozji Collegium Medicum w Bydgoszczy.
- Współopiekun studentów farmacji wymiany Erasmus z Hiszpanii - 1 student (lipiec 2015) i Serbii - 2 studentów (lipiec 2016), Katedra Farmakognozji Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
- Opiekun naukowy “Studenckiego Koła Naukowego Kosmetologów”; 2014-2016, Almamer Szkoła Wyższa, Warszawa.

Prowadzenie szkoleń i kursów

Prowadzenie szkoleń z zakresu roślin leczniczych i kosmetycznych (Almamer Szkoła Wyższa, Warszawa). Tematyka obejmowała uprawę i pozyskiwanie surowców roślinnych, przetwarzanie i przechowywanie, kontrolę jakości, certyfikowanie, metabolity wtórne aktywne biologicznie oraz aspekty kosmetyków ekologicznych. Myślą przewodnią było przedstawienie uczestnikom drogi od uprawy surowca roślinnego do formy fizykochemicznej kosmetyku lub leku.

Aktywność popularyzująca na rzecz nauki

Od 2008 roku Autor aktywnie uczestniczy w wydarzeniach mających na celu popularyzację nauki, takich jak festiwale nauki (Lubelski Festiwal Nauki, Krakowski Festiwal Nauki). Był wykonawcą eksperymentów chemicznych, jak również wygłaszał wykłady otwarte:

- Fitokosmetyki- powrót do natury – IX. 2008
- Opalać się czy nie? Rośliny w walce z fotostarzeniem– IX. 2009
- Jak czytać skład kosmetyków? – IX. 2011

Członkostwo w Komitecie organizacyjnym konferencji

5th International conference and workshop: “Plant - the source of research material”. Lublin 21-24.06.2017

3-4.08.2017 - Organizacja wizyty, Wydział Farmaceutyczny CM UMK, delegacji z Guangdong Pharmaceutical University, School of Traditional Chinese Medicine (Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Production & Development of Cantonese Medicinal Materials), Chiny.

7. Bibliometryczne podsumowanie osiągnięć naukowych

Habilitant jest Autorem:

- 34 publikacji, w tym 23 publikacji oryginalnych, 1 publikacja oryginalna pełnotekstowa w suplemencie czasopisma, 9 przeglądowych, 1 rozdział w książce międzynarodowej. W 19 publikacjach jest pierwszym Autorem.
- 20 publikacji opublikowano w czasopismach z IF, w tym, w 11 Habilitant jest pierwszym Autorem.
- 24 doniesień konferencyjnych
- Sumaryczny *impact factor* według Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **46.111**, łączna punktacja KBN/MNiSW **512**.
- Sumaryczny *impact factor* według Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania, uwzględniający 1 publikację oryginalną w suplemencie czasopisma wynosi **47.538**, łączna punktacja KBN/MNiSW **537**.
- Liczba cytowań (bez autocytowań) publikacji według Web of Science i Scopus: **61**
- Index Hirscha (h) według Web of Science i Scopus: **5**

p.o. Kierownika
Katedry / Zakładu Farmakologii
Załuski
dr Daniel Załuski