



Zakład Farmakognozji
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2a, 15-230 Białystok, Polska
tel.: 85-748-56-94; fax.: 85-748-54-16
e-mail: michal.tomczyk@umb.edu.pl

Białystok, dnia 1 marca 2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Marty Kuli
zatytułowanej „**Badania fitochemiczne z oceną aktywności biologicznej**
niektórych gatunków z rodzaju *Rubus* i *Lonicera*”

wykonanej pod kierunkiem **Prof. dr hab. n. farm. Mirosławy Krauze-Baranowskiej**
w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych
Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Postęp w wysoce specjalistycznych badaniach analitycznych roślinnych surowców leczniczych staje się obecnie bardzo istotnym etapem w poszukiwaniu nowych, wydajnych źródeł związków pochodzenia naturalnego, jako potencjalnych leków. Dodatkowym elementem, niekiedy pomijanym, a niezmiernie istotnym z punktu widzenia właściwej fitoterapii, jest szczegółowa ocena zarówno skuteczności leczniczej leków roślinnych jak i ich bezpieczeństwo stosowania. Dodatkowym utrudnieniem w badaniach roślinnych surowców leczniczych w kontekście zarówno badań fitochemicznych jak i niekiedy wielokierunkowego działania leczniczego jest złożona kompozycja ich składników czynnych odpowiedzialnych za efekty terapeutyczne. Z jednej strony wymagająca zastosowania wysokospecjalistycznej aparatury do ich oznaczeń, z drugiej pełną ich identyfikację z określeniem czynnika odpowiedzialnego za efekt leczniczy.

Przedstawiona do oceny dysertacja Pani mgr farm. Marty Kuli wpisuje się w bardzo aktualny nurt prowadzonych obecnie na świecie badań analitycznych, opisujących nie tylko opracowanie wydajnych warunków ekstrakcji jak i technik izolacyjnych w przypadku substancji pozyskiwanych z materiału roślinnego, ale i przeprowadzenie właściwej oceny ich zawartości jakościowej i ilościowej w złożonej matrycy roślinnej technikami chromatograficznymi

i spektralnymi jak i opisanie ich aktywności farmakologicznej. Doktorantka podjęła się bardzo trudnego zadania badawczego uwzględniającego szereg złożonych etapów badawczych. Przyjęte tezy badawcze pracy doktorskiej zasługują na wyraźne podkreślenie, oraz co istotne, zostały skonstruowane bardzo czytelnie i poprawnie. Następstwem tego są uzyskane wyniki nie budzące moich jakichkolwiek zastrzeżeń.

Jako przedmiotowy cel badań Pani mgr Kula wybrała niebadane to tej pory surowce roślinne ze znanych już gatunków roślin z rodzaju *Rubus* L. – malina-jeżyna oraz *Lonicera* L. – wiciokrzew. W tym miejscu nasuwa mi się pytanie o wyjaśnienie właściwego polskiego nazewnictwa taksonomicznego (botanicznego) w odniesieniu do gatunku *Rubus occidentalis*. Warto byłoby ujednoczyć nazwę obowiązującą jako malina czarna. W tekście natomiast pojawia się często w odniesieniu do *R. occidentalis*, synonimowa nazwa gatunkowa malina zachodnia.

Zadania badawcze Doktorantka zrealizowała w trzech obszarach tematycznych ściśle ze sobą powiązanych. Wykorzystując nowoczesne techniki chromatograficzne z uwzględnieniem systemów dwuwymiarowej chromatografii ciekowej (2D-LC) przeprowadziła szereg analiz fitochemicznych dających podstawę do opracowania zagadnień o charakterze chemotaksonomicznym, a następnie płynnie przechodząc do zadań badawczych, których przedmiotem była staranna ocena aktywności biologicznej i farmakologicznej badanych surowców roślinnych. Większość zadań badawczych zostało przeprowadzonych po raz pierwszy, co stanowi element nowości i oryginalności naukowej recenzowanej dysertacji. Z uwagi na bardzo obszerny metodologicznie i zadaniowo charakter recenzowanej pracy pozwolę sobie jedynie na przedstawienie najistotniejszych faktów:

1. W zakresie badań chromatograficznych wykorzystujących dwuwymiarową chromatografię ciekową (2D LC) opracowała po raz pierwszy systemy do rozdzielania pewnych grup metabolitów wtórnych występujących w pędach badanych odmian *Rubus* oraz kwiatach odmian uprawowych *Lonicera*. Dodatkowo podjęła się pełnej walidacji utworzonych metod analitycznych dla celów analiz ilościowych. Drobną uwagę dotyczy niewłaściwego określenia zużytych w procesie rozdzielania chromatograficznego mieszanin rozpuszczalników jako ścieki, wygodniej byłoby użyć – zlewki/odpady.
2. Wykorzystując metody chromatograficzne w zakresie LC-DAD-ESI-MS opisała po raz pierwszy obecność wybranych związków w badanych surowcach, między innymi: w owocach *R. idaeus* po raz pierwszy wykryła sangwinę H-2. Dokonała jednocześnie po raz pierwszy oznaczeń ilościowej zawartości szeregu metabolitów wtórnych w tym pochodnych elagotanoidów, kwasów fenolowych i pochodnych flawonoidowych. Jednakże, zestawienia tabelaryczne analiz chromatograficznych powinny uwzględniać ujednoczone nazewnictwo

związków. Stosuje w tabeli dla poszczególnych związków raz nazwy zwyczajowe np.: hiperozyd innym razem podaje jedynie nazewnictwo uwzględniające charakter glikozydowy połączenia flawonoidowego np.: 3-*O*-glukuronid kwercetyny zamiast miquelianina. Dodatkowo, błędnie charakteryzuje związek izokwercytrynę jako izokwercetynę.

3. Scharakteryzowała skład chemiczny niebadanego do tej pory na świecie surowca, pędów *R. occidentalis*.
4. Przeanalizowała i porównała skład chemiczny owoców trzech uprawowych odmian krajowych *L. caerulea* var. *edulis* opisując tym samym po raz pierwszy w rodzaju *Lonicera* obecność procyjanidyny B2. Po raz pierwszy również scharakteryzowała metodami HPLC-DAD-ESI/APCI-MS kompozycję związków irydoidowych w owocach wspomnianej odmiany.
5. Dopełnieniem badań o charakterze fitochemicznym są przeprowadzone analizy w zakresie badań aktywności biologicznej oraz farmakologicznej zarówno wyciągów z owoców i pędów *R. idaeus*, owoców *R. occidentalis* jak i owoców i kwiatów *L. caerulea*. Doktorantka określiła aktywność przeciwbakteryjną ekstraktów otrzymanych z owoców i pędów niektórych odmian hodowlanych *R. idaeus* oraz *R. occidentalis*, a także dokonała obserwacji w zakresie aktywności a szczególnie w kontekście połączenia ekstrakt roślinny-antybiotyku. Otrzymane wyniki są pierwszymi opisanymi do tej pory dla wyciągów z malin. Dokonała również szeregu oznaczeń aktywności przeciwbakteryjnej dla ekstraktów z owoców *L. caerulea* var. *edulis* 'Wojtek'.
6. Poza badaniami o charakterze mikrobiologicznym przeprowadziła oznaczenia aktywności przeciwwzapalnej i przeciwutleniającej dla ekstraktu z owoców wiciokrzewu sinego. W modeli *in vivo* indukowanego karageniną obrzęku łapy szczura zaobserwowała istotne zahamowanie obrzęku przy zastosowanej dawce ekstraktu 500 mg/kg m. c., szczególnie ok 3-5 godziny eksperymentu.
7. Kończącym etapem badań była ocena aktywności biologicznej urolityn – metabolitów jelitowych elagotanin, w tym kwasu elagowego. Po raz pierwszy oceniła działanie przeciwbakteryjne urolityn A-C oraz metylourolityn A i B. Dodatkowo przeprowadziła ocenę cytotoksyczności urolityn A-C wobec 4 linii komórkowych ludzkiego raka piersi, porównując aktywność tych związków dodatkowo z kwasem elagowym, sangwiną H-6 oraz ekstraktem z pędów *R. idaeus* 'Willamette'. Doktorantka stwierdziła, iż aktywność przeciwbakteryjna urolityn jest znacząco słabsza od sangwiny H-6 i kwasu elagowego. Wyjątek stanowiła aktywna urolityna C. Natomiast urolityny A i C wykazywały znacznie silniejszą aktywność cytotoksyczną.

Niezwykle wysoko oceniam rangę i znaczenie wielokierunkowych badań z zakresu analizy fitochemicznej roślinnych surowców leczniczych w zespole badawczym Katedry Farmakognozji Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego kierowanej przez Prof. dr hab. n. farm. Mirosławę Krauze-Baranowską. Lektura dysertacji uprawnia mnie do stwierdzenia, że Autorka wykazała się zdolnością w opanowaniu szeregu nowatorskich technik pracy w laboratorium fitochemicznym. Przedstawione w pracy doktorskiej wyniki badań oraz obszerna i zrozumiała, ale i krytyczna dyskusja potwierdzają dojrzałość badawczą Doktorantki, jak i dociekliwość oraz umiejętność stawiania i rozwiązywania problemów natury naukowej. Strona techniczna rozprawy doktorskiej Pani mgr farm. Marty Kuli nie budzi zastrzeżeń tym bardziej, iż jest przygotowana z zachowanym klasycznym i bardzo estetycznym układem edytorskim. Rzetelnie przygotowane odniesienia literaturowe wskazują na pełne i wyczerpujące przygotowanie pracy doktorskiej.

Podsumowując, jednoznacznie stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr farm. Marty Kuli jest wartościowa zarówno z naukowego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Wnoszę tym samym do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego mgr farm. Marty Kuli do dalszych etapów przewodu doktorskiego, rekomendując tym samym do nadania Pani mgr M. Kuli stopnia doktora nauk farmaceutycznych.



Dr hab. n. farm. Michał Tomczyk

Kierownik Zakładu Farmakognozji
Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku