

Streszczenie rozprawy doktorskiej

**„Badanie aktywności biologicznej wybranych ekstraktów roślinnych
i otrzymanych na ich bazie preparatów farmaceutycznych”**

Praca złożona przez mgr Wioletę Jesionek

Przygotowana pod kierunkiem promotora dr hab. Ireny Chomy, prof. UMCS

oraz promotora pomocniczego dr hab. Emilii Fornal

Świat roślin jest źródłem niemalże niezliczonej ilości substancji biologicznie aktywnych, które mogą być stosowane w leczeniu wielu chorób ludzi, zwierząt i roślin. Fakt ten zachęca do ciągłego rozwijania metod separacji i biodetekcji służących ich izolacji i identyfikacji. Technika, która wydaje się być do tego celu idealna jest analiza ukierunkowana na efekt (EDA – ang. *effect-directed analysis*), która dostarcza informacji o substancjach odpowiedzialnych za efekt biologiczny, obecnych nawet w bardzo złożonych matrycach takich jak ekstrakty roślinne. Najlepsze rezultaty osiągnąć można łącząc metody biodetekcji EDA z analizami instrumentalnymi. Chromatografia cienkowarstwowa – bioautografia bezpośrednia (TLC-DB – ang. *thin-layer chromatograph - direct bioautography*) łączy separację na płytce TLC z detekcją biologiczną wykonywaną bezpośrednio na płytce. Dlatego też, metoda ta jest odpowiednia do poszukiwania składników roślinnych wykazujących aktywność biologiczną, takich jak antybiotyki i przeciwutleniacze.

Temat prezentowanej rozprawy doktorskiej dotyczy analizy ekstraktów otrzymanych z wybranych gatunków roślin: dziurawiec zwyczajny (*Hypericum perforatum* L.), rumianek pospolity (*Matricaria recutita* L.), krwawnik pospolity (*Achillea millefolium* L.), macierzanka tymianek (*Thymus vulgaris* L.), szalwia lekarska (*Salvia officinalis* L.), glistnik jaskółcze ziele (*Chelidonium majus* L.), jak również preparatów farmaceutycznych: UkrainTM i olejki eteryczne (tymiankowe i szalwiowe). Głównym celem badań była separacja i izolacja składników bioaktywnych z ekstraktów roślinnych stosując technikę TLC-DB wobec dziewięciu szczepów bakteryjnych (*Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* and *Aliivibrio fischeri*). Identyfikację składników aktywnych wykonano przy użyciu technik HPLC-DAD, LC-MS/MS.

Teoretyczna część rozprawy (oznaczona jako I) składa się z trzech rozdziałów. W pierwszym z nich diskutowane są zagadnienia związane ze stosowaniem antybiotyków i ryzykiem jakie niosą infekcje bakteryjne. Dodatkowo krótko opisany jest wpływ rodników na organizmy żywe. W rozdziale drugim omawiane są różnorodne testy oceny aktywności biologicznej (TLC-DB) stosowane w poszukiwaniu substancji biologicznie czynnych. Rozdział trzeci obejmuje opis roślin i preparatów poddanych analizie.

Część II rozprawy zawiera główne i szczegółowe cele, jak również spis ośrodków badawczych, z którymi w ramach prowadzonych badań została nawiązana współpraca naukowa.

W części doświadczalnej rozprawy (oznaczonej jako III) opisane są odczynniki metody stosowane podczas realizacji badań.

W części czwartej (oznaczonej jako IV) prezentowane i diskutowane są uzyskane wyniki badań. Część IV podzielona jest na pięć rozdziałów.

Pierwszy rozdział dotyczy detekcji składników przeciwbakteryjnych w dziurawcu zwyczajnym. Pięć bioaktywnych składników zostało wykrytych i wyizolowanych przy użyciu TLC-DB a następnie zidentyfikowanych za pomocą HPLC-DAD i LC-MS/MS.

Celem badań opisanych w rozdziale drugim było rozdzielenie i izolacja składników bioaktywnych obecnych w ekstraktach z rumianku pospolitego i krwawnika pospolitego. Dwa składniki aktywne obecne w obydwu roślinach zostały wyizolowane i zidentyfikowane za pomocą LC-MS/MS.

Rozdział trzeci dotyczy optymalizacji warunków rozdziału olejków eterycznych (tymiankowego i szalwiowego), ocenę ich aktywności przeciwbakteryjnej i porównanie jej z aktywnością etanolowych ekstraktów otrzymanych z tych roślin. Dalsze badania obejmowały separację ekstraktów: tymiankowego i szalwiowego przy użyciu metody techniki TLC, detekcję właściwości przeciwbakteryjnych metodą TLC-DB oraz izolację składników aktywnych i identyfikację za pomocą LC-MS/MS.

Rozdział czwarty obejmuje wyniki analiz TLC, TLC-DB i LC-MS/MS wykonanych dla ekstraktów z glistnika jaskółcze ziele i preparatu Ukrain™. Przeprowadzone analizy TLC-DB ekstraktów z *Chelidonium majus* dowiodły iż aktywność tej rośliny związana jest głównie z obecnością alkaloidów izochinolinowych, które zidentyfikowano za pomocą techniki LC-HRMS oraz LC-MS/MS. Analiza LC-MS/MS preparatu Ukrain™ pozwoliła na identyfikację po raz pierwszy siedmiu alkaloidów izochinolinowych.

Rozdział piąty obejmuje ocenę właściwości przeciwutleniających dla pięciu gatunków roślin: dziurawca zwyczajnego, rumianku pospolitego, krwawnika pospolitego, macierzanki tymianku, szalwii lekarskiej. Aktywność przeciwutleniająca została oceniona przy użyciu testu TLC-DPPH[•]. Dziewięć z dziesięciu badanych polifenoli wykazało badane właściwości biologiczne. W celu lepszej separacji badanych flawonoidów i kwasów fenolowych zaproponowano dwie nowe fazy ruchome. Obecność związków przeciwutleniających w ekstraktach została potwierdzona techniką LC-MS.

Rozprawę kończą wnioski płynące z przeprowadzonych badań oraz spis cytowanej literatury.