



Wydział Farmaceutyczny  
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego



Gdańsk, 11.12.2015

Prof. dr hab. Mirosława Krauze-Baranowska prof. nadzw.  
Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
Al. Gen. J. Hallera 107  
80-416 Gdańsk

## OCENA

pracy doktorskiej mgr Wiolety Jesionek: „Badanie aktywności  
biologicznej wybranych ekstraktów roślinnych i otrzymanych na ich  
bazie preparatów farmaceutycznych”

wykonana w Zakładzie Metod Chromatograficznych Wydziału Chemii Uniwersytetu Marie-  
Curie Skłodowskiej w Lublinie

pod kierunkiem dr hab. Ireny Chomy prof. nadzw.

Pragnę na wstępie podziękować Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Marie-Curie Skłodowskiej w Lublinie za powierzenie mi zaszczytu recenzowania pracy doktorskiej mgr Wiolety Jesionek: „Badanie aktywności biologicznej wybranych ekstraktów roślinnych i otrzymanych na ich bazie preparatów farmaceutycznych” wykonanej w Zakładzie Metod Chromatograficznych Wydziału Chemii Uniwersytetu Marie-Curie Skłodowskiej w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Ireny Chomy prof. nadzw.

Surowce roślinne są źródłem szeregu grup związków chemicznych o zróżnicowanej aktywności biologicznej, oddziaływujących na organizm wielokierunkowo jak również często obserwowane są efekty agonistyczne – addytywne, w których uczestniczy kilka związków wiążąc się z jednym celem w komórce. Dlatego, termin lek roślinny odnosi się do mieszanin różnych grup metabolitów wtórnych a pojedyncze związki izolowane z surowców roślinnych nie są klasyfikowane jako leki roślinne a jedynie jako otrzymywane ze świata roślinnego. W tej grupie należy wymienić przede wszystkim leki przeciwnowotworowe pochodzenia roślinnego, należące do terpenów, lignanów, alkaloidów, czy inne silnie działające alkaloidy o działaniu przeciwbólowym (np. morfina), terpeny o działaniu przeciwmalarycznym (artemizyna) i wiele innych. Obecnie szacuje się, że około 25% struktur leków wykorzystywanych w terapii wywodzi się ze świata roślin. Odkrycie cennych właściwości szeregu wymienionych związków jest rezultatem wprowadzania nowych narzędzi w badaniach skринingowych aktywności

biologicznej jak np. wprowadzenie przez National Cancer Institute w USA bardziej wrażliwych linii komórek nowotworowych do poszukiwań nowych leków cytostatycznych umożliwiło odkrycie paklitakselu, związku terpenowego występującego w korze cisa atlantyckiego. Jakkolwiek ze względu na niskie stężenie związku w surowcu, jest on wytwarzany drogą semisyntezy z 10-deacetylobakkatyny, wyodrębnionej z igieł innego gatunku cisa, mianowicie cisa pospolitego.

Obecnie w światowych programach poszukujących w roślinach nowych struktur o aktywności biologicznej, szczególną uwagę kieruje się na związki występujące w niskich stężeniach. Ich wykrycie wymaga zastosowania czułych metod skринingowych, w tym coraz bardziej popularnej bioautografii a następnie przeprowadzenia wstępnego frakcjonowania ekstraktu roślinnego i badań biologicznych *in vitro/in vivo*.

W oparciu o wstępną analizę wyciągów roślinnych z użyciem przede wszystkim TLC, możliwą jest ocena szeregu efektów biologicznych (aktywności antyutleniającej, hamującej acetylocholinoesterazę i wielu innych) bezpośrednio na warstwie adsorbentu z rozdzielonymi składnikami chemicznymi analizowanej próbki. W przeciwieństwie do TLC, wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) nie znalazła szerszego zastosowania w ocenie aktywności biologicznej mieszanin związków stanowiących ekstrakty roślinne, poza oznaczeniem w rozdzieleniu chromatograficznym aktywności przeciwutleniającej pojedynczych ich składników.

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie, wydaje się, prostymi, jedynie pozornie, w wykonaniu testami przeprowadzanymi na chromatogramach TLC, służącymi wstępnej ocenie aktywności biologicznej rozdzielonych związków czynnych ekstraktu roślinnego, jakkolwiek pierwsze prace z tego zakresu pochodzą z lat 80-siątych i należą do zespołu prof. Kurta Hosttetmana z Katedry Farmakognozji Uniwersytetu w Lozannie, obecnie Uniwersytetu w Genewie. Cytowana przez Doktorantkę publikacja prof. Andrew Marstona, z zespołu prof. Kurta Hosttetmana, jest tego potwierdzeniem (poz. 76, Marston A. Thin-layer chromatography with biological detection in phytochemistry. J. Chromatogr. A, 1218, 2011).

Na tym tle, temat przedstawionej do oceny pracy doktorskiej mgr Wiolety Jesionek jest niezmiernie aktualny i wpisuje się w światowe kierunki badań farmakognostycznych i fitochemicznych. Przedmiotem zainteresowań badawczych Doktorantki była ocena aktywności przeciwbakteryjnej oraz częściowo antyutleniającej wybranych surowców roślinnych, stanowiących różne części roślin - 7 gatunków (surowiec roślinny pierwotny) jak i będących wydzielinami roślinnymi – 2 olejki eteryczne (surowiec roślinny wtórny). Są to ziele dziurawca, koszyczek rumianku, liść szafwii, ziele tymianku oraz olejki eteryczne: tymiankowy i szafwiowy stanowiące produkty handlowe różnego pochodzenia (3 producentów). Umożliwiło to Doktorantce porównanie właściwości przeciwbakteryjnych olejków do tych wykazywanych przez wyciągi organiczne otrzymane w toku badań z surowców pierwotnych – ziela tymianku i liścia szafwii. Z taką decyzją Autorki można polemizować, ponieważ bardziej interesującymi byłyby badania olejków eterycznych oddestylowanych bezpośrednio z analizowanych dwóch surowców i na tym tle porównanie preparatów handlowych. Ostatecznie jednak, dysertacja wnosi dodatkowe, cenne informacje o jakości olejkowych preparatów dostępnych na rynku produktów pochodzenia naturalnego. Ponadto Doktorantka przeprowadziła bardzo wnikliwe badania porównawcze aktywności przeciwbakteryjnej różnych surowców pochodzących z glistnika jaskółcze ziele na tle ich składu chemicznego oraz preparatu Ukrain, o niepotwierdzonych przez EMEA właściwościach przeciwnowotworowych

a otrzymywanego na bazie związków czynnych z korzenia glistnika jaskółcze ziele. Wybrane przez Doktorantkę surowce roślinne są powszechnie znane jako wykazujące efekty przeciwdrobnoustrojowe a ich skład chemiczny jest dobrze rozpoznany i opisany w wielu podręcznikach i publikacjach naukowych z zakresu farmakognozji i fitochemii. Z farmaceutycznego i farmakognostycznego punktu widzenia, lekturę dysertacji utrudnia stosowanie przez Doktorantkę nazw zwyczajowych badanych roślin a nie nazw surowców (wyjątek stanowi część eksperymentalna).

Eksperymenty opisane w dysertacji można sklasyfikować w dwóch grupach, mianowicie eksperymentów czysto analitycznych obejmujących analizy fitochemiczne z wykorzystaniem różnych technik chromatograficznych (TLC, HPLC), w tym nowoczesnych technik sprzężenia system chromatograficzny – selektywny detektor. Drugą grupę stanowią badania o charakterze biologicznym przeprowadzone metodą autografii bezpośredniej na rozwiniętych chromatogramach TLC wyciągów z wyżej wymienionych surowców roślinnych, testujące aktywność biologiczną w zakresie hamowania wzrostu 9 szczepów bakteryjnych, mianowicie: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Allivibrio fischeri* oraz wyznaczające właściwości przeciwutleniające z użyciem rodnika DPPH. W badaniach aktywności przeciwbakteryjnej metodą TLC-DB Doktorantka użyła do wizualizacji stref zahamowania wzrostu testu redukcji soli tetrazolowej jak i bakterii luminescencyjnych (*A. fischeri*), co jest świadectwem bardzo dobrego przygotowania teoretycznego do realizacji tematu doktorskiego jak i umiejętności praktycznych umożliwiających właściwe przeprowadzenie testów bioautograficznych. Należy w tym miejscu podkreślić znaczenie dorobku i doświadczenia w tym obszarze badawczym promotora dr hab. Ireny Chomy prof. nadzw.

Doktorantka dokonała szerokiej oceny aktywności przeciwbakteryjnej badanych matryc roślinnych wykorzystując szczepy nieinwazyjne, patogeny ludzkie oraz patogeny roślinne. Przeprowadzenie tych badań było możliwe dzięki współpracy z Zakładem Mikrobiologii Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Doktorantka nabyła nowych umiejętności z zakresu pracy z materiałem mikrobiologicznym, hodowli różnego typu szczepów bakteryjnych i ich przygotowania do testów biologicznych. Natomiast potencjał antyoksydacyjny związków chemicznych badanych pierwotnych surowców roślinnych oznaczyła wobec związków wzorcowych opracowując warunki rozdzieleń TLC dla mieszanin: 3 aglikonów flawonoidowych, 4 glikozydów flawonoidowych oraz 3 kwasów fenolowych, rozpoznanych wcześniej jako ich składniki. Związki te znane są ze swoich właściwości antyutleniających, natomiast Doktorantka wskazała, że badane ekstrakty są bogate w inne połączenia o charakterze antyoksydantów.

Metody chromatograficzne zostały użyte przez Doktorantkę jako samodzielne narzędzia oraz stanowiące podstawowy element w ocenie aktywności biologicznej. Badania chromatograficzne stanowią szeroko zaplanowane i efektywnie przeprowadzone rozdzielania technikami TLC, HPLC w tym HPLC w sprzężeniu z detektorami mas kilku typów: Q/ToF-MS, QQQ-MS. Obejmują eksperymenty z zakresu optymalizacji warunków rozdzielania chromatograficznego badanych matryc pochodzenia roślinnego metodami TLC z użyciem jako fazy stacjonarnej żelu krzemionkowego. Trudno zgodzić się ze stwierdzeniem Autorki na stronie 144 wers 11, że „do identyfikacji tych związków (flawonoidów i kwasów fenolowych)....

stosuje się praktycznie jeden układ chromatograficzny, gdzie fazą stacjonarną .... jest żel krzemionkowy, natomiast fazą ruchomą jest octan etylu:kwasy mrówkowy:lodowaty kwas octowy:woda..... W niewielkim procencie przeprowadzanych analiz stosuje się modyfikacje wymienionej już fazy ruchomej....". Takie stwierdzenie, jakkolwiek poparte cytowaną pozycją literaturową (poz. 240) należy uznać za niefortunne, szczególnie w kontekście bardzo dużej liczby publikacji naukowych, których przedmiotem jest chromatografia planarna związków fenolowych pochodzenia roślinnego m. in. autorstwa naukowców Uniwersytetu Medycznego w Lublinie użyta w różnych konfiguracjach układów chromatograficznych (rodzaj adsorbentu/stosowana faza ruchoma). Nasuwa się pytanie, dlaczego Doktorantka ograniczyła się w poszukiwaniu, cytując ze str. 144 wers 17, „najlepszemu układowi chromatograficznemu umożliwiającemu pewną identyfikację wybranej grupy dziesięciu polifenoli..” do wykorzystania jedynie żelu krzemionkowego jako nośnika fazy ruchomej ?. Brakuje odpowiedniego uzasadnienia w tekście dysertacji. Rozdzielenia z użyciem innych adsorbentów dostarczyłyby niewątpliwie więcej informacji o kompozycji chemicznej badanych ekstraktów, tym bardziej, że Doktorantka stosując technikę „dot-blot” oceniała efekt przeciwbakteryjny całego ekstraktu czy olejku eterycznego. Można jedynie przypuszczać, że użycie tego adsorbentu jest częścią procedury, opisaną w literaturze, wykonywania badań aktywności metodą TLC-DB ekstraktów roślinnych, i jest związane w kontekście metody z właściwościami żelu krzemionkowego. Wyjaśnienia tych wątpliwości nie można znaleźć na stronach pracy.

Opracowane przez Autorkę modyfikacje faz ruchomych w układzie z żelem krzemionkowym jako faza stacjonarną, umożliwiły separację i identyfikację jako aktywnych biologicznie składników wyciągów roślinnych szeregu związków głównie lipofilowych – aglikonów flawonoidowych, w tym metoksylowych pochodnych flawonów, kwasów tłuszczowych, terpenów o różnej strukturze, których część z sukcesem wyodrębniła Ona we frakcjach. Należy jednak podkreślić, że do badań aktywności przeciwbakteryjnej metodą TLC-DB wymienionych powyżej surowców, Doktorantka otrzymała wyciągi z użyciem 70% etanolu, co umożliwiło ekstrakcję w większości związków o charakterze bardziej hydrofilowym obok związków lipofilowych wytrawionych, można założyć, z niższą wydajnością. Optymalizacji warunków ekstrakcji związków lipofilowych z badanego materiału roślinnego oraz oceny jej wydajności Doktorantka nie przeprowadziła.

Właściwie zaplanowane i wykonane przez Doktorantkę badania fitochemiczne są bardzo obszerne i obejmują separację w skali analitycznej jak również w skali preparatywnej związków flawonoidowych, kwasów fenolowych, terpenów jako składników czynnych ziela dziurawca, koszycka rumianku, ziela krwawnika, ziela tymianku, liście szatwii oraz podstawowych i dominujących składników dwóch olejków eterycznych z ziela tymianku i liście szatwii. Szczególnie wartościowe w tym zakresie są wyniki badań nad liściem szatwii i identyfikacja szeregu rzadko spotykanych w świecie roślinnym metabolitów z grupy terpenów i flawonów. Badania te potwierdziły tożsamość badanych surowców i zgodność większości profili metabolitów wtórnych z cytowanymi danymi literaturowymi. Jednocześnie rodzi się pytanie o rodzaj zidentyfikowanego we frakcji F4 wyciągu z ziela dziurawca kwasu linolenowego w kontekście wykorzystania dwóch wzorców kwasu  $\gamma$ - i  $\alpha$ -linolenowego.

Kolejną ważną część rozprawy doktorskiej stanowią badania różnych części glistnika jaskółcze ziele (korzeń, łodyga, liście) w zakresie związków alkaloidowych i ich właściwości przeciwbakteryjnych ocenionych wobec dwóch szczepów *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli*, przeprowadzonych według schematu przyjętego dla pozostałych badanych surowców

roślinnych. Interesującym jest wykazanie najsilniejszego efektu przeciwbakteryjnego dla ekstraktu metanolowego z korzeni glistnika w porównaniu do ekstraktu octanu etylu i wyodrębnionej frakcji alkaloidowej oraz rozpoznanie szeregu znanych alkaloidów glistnika jako związków o właściwościach przeciwbakteryjnych wobec *B. subtilis*. Z drugiej strony, wartościowe dla podjęcia dalszych badań są poczynione przez Doktorantkę obserwacje o innych, nieznanach i aktywnych przeciwdrobnoustrojowo związkach w ekstrakcie z korzeni.

Opracowany warsztat pracy Doktorantka wykorzystwała z sukcesem do oceny składu zespołu alkaloidowego preparatu Ukrain<sup>TM</sup>, nie zarejestrowanego na terenie Polski i Unii Europejskiej jako leku przeciwnowotworowego i wytwarzanego prawdopodobnie na bazie związków czynnych z korzenia glistnika jaskółcze ziele, według danych literaturowych przytoczonych w dysertacji. W punkcie 2.2 Preparaty farmaceutyczne na str. 73 części doświadczalnej Doktorantka nie podaje pochodzenia preparatu Ukrain<sup>TM</sup> i jego producenta, można jedynie domyślać się, że jest to „Nowicky Pharma” z Austrii (str. 65, część teoretyczna, rozdział 3. Analizowane surowce i preparaty roślinne). Pod nazwą handlową Ukrain jest zarejestrowana również w NCI (NSC61570) tiofosforowa pochodna chelidoniny z obserwowaną skutecznością m.in. w terapii nowotworu trzustki. Otrzymane wyniki badań identyfikacyjnych technikami sprzężenia LC-MS poprzez ocenę ścieżek fragmentacji i wartości m/z jonów molekularnych (HR-MS) oraz jonów fragmentacyjnych MS/MS (HR-MS) dostarczyły nowych danych o składzie alkaloidowym tego produktu. Doktorantka obok 8 znanych i opisanych w literaturze alkaloidów glistnika jako składników Ukrain<sup>TM</sup> wykryła obecność 7 nowych w tym produkcie związków – stylopina, norchelidonina, hydroberberyna, przypuszczalnie 5,6 dihydropochodne sangwinaryny i chelerytryny oraz przypuszczalnie 2 dihydropochodne chelidoniny. Należy podkreślić, że znaczenie ziele glistnika jako surowca leczniczego jest ograniczane, ze względu na wykazaną hepatotoksyczność niektórych alkaloidów, głównie sangwinaryny i chelerytryny, co obserwowano w badaniach na szczurach. Za działanie toksyczne glistnika nie jest odpowiedzialna berberyna, która włącza się w efekty spazmolityczne, żółciotwórcze surowca, ponadto jest skutecznym i bezpiecznym w stosowaniu związkiem przeciwbakteryjnym. Na podstawie otrzymanych profili HPLC z detekcją mas (brak szczegółowych danych) nie można bezpośrednio wnioskować o bezpieczeństwie stosowania preparatu Ukrain<sup>TM</sup>, w odniesieniu do surowca – ziele glistnika, co Doktorantka formułuje jako jeden z wniosków na str. 159.

W trakcie realizacji tematu doktorskiego Doktorantka wykazała się dużymi umiejętnościami analitycznymi wykonując we współpracy z ośrodkami krajowymi (Pracownia Zastosowań Metod Separacji i Spektroskopii ICBN Katolickiego Uniwersytetu w Lublinie) i zagranicznymi (Zakład Farmakognozji Uniwersytetu Semmelweis w Budapeszcie) badania techniką sprzężenia HPLC z detekcją masową w systemach LC-Q/ToF, LC-QQQ MS o różnych źródłach jonizacji, m. in. w trybie jonów dodatnich i ujemnych, otrzymanych z ekstraktów badanych surowców frakcji o najsilniejszej aktywności wobec użytych szczepów bakteryjnych. Właściwa interpretacja otrzymanych widm masowych, w tym widm wysokiej rozdzielczości, widm fragmentacyjnych MS/MS i znajomość ścieżek fragmentacji, wynikająca z właściwie zebranych danych literaturowych, owocowała identyfikacją w badanym materiale roślinnym szeregu związków z różnych grup metabolitów wtórnych, w tym terpenów, alkaloidów i związków flawonoidowych.

Niewątpliwym osiągnięciem Doktorantki jest selekcja i identyfikacja metabolitów wtórnych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych wobec użytych szczepów

bakteryjnych, spośród związków charakterystycznych dla wyżej wymienionych surowców i określenie metodą TLC-DB ich udziału w efekcie przeciwbakteryjnym wyciągów (ekstraktów) roślinnych. Dla większości wyodrębnionych związków zostały one opisane wobec użytych szczepów bakteryjnych po raz pierwszy. Doktorantka potwierdziła silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe tymolu jako składnika olejku tymiankowego i ziela tymianku a także metoksylowych pochodnych flawonoidów. Dodatkowo wskazała na właściwości przeciwdrobnoustrojowe kwasu  $\alpha$ -linolenowego oraz linalolu z olejku tymiankowego. W tym obszarze wyniki pracy stanowią znaczącą wartość i w głównej mierze decydują o wysokiej ocenie poziomu nowości wyników dysertacji. Jakkolwiek należy podkreślić również inne naukowe sukcesy Doktorantki:

- opracowanie metody TLC ilościowego oznaczania składników olejku tymiankowego (jakkolwiek brakuje pełnej walidacji metody),

- opracowanie warunków analizy TLC na żelu krzemionkowym wyciągów etanolowo-wodnych z badanych surowców olejkowych (4 – koszyczek rumianku, liść szafwii, ziele tymianku, ziele krwawnika) i surowca flawonoidowego (1 – ziele dziurawca)

- opracowanie dla celów badań strukturalnych warunków analizy wyciągów roślinnych i ich frakcji metodą HPLC w sprzężeniu z różnymi typami spektrometrów mas, co w konsekwencji umożliwiło identyfikację związków czynnych o potwierdzonej aktywności biologicznej w oparciu o widma MS wysokiej rozdzielczości (HR-MS) i widma fragmentacyjne MS/MS

- opracowanie warunków analizy metodami TLC i HPLC w sprzężeniu z detekcją mas alkaloidów glistnika jaskółcze ziele i potwierdzenie obecności szeregu alkaloidów, w tym artefaktów, w wyciągu z korzenia glistnika

- identyfikacja 15 alkaloidów glistnika w produkcie Ukrain<sup>TM</sup> z użyciem LC-Q/ToF-MS i analizą jonów molekularnych i jonów MS/MS

Rezultaty naukowych zainteresowań i poszukiwań Doktorantki znajdują odzwierciedlenie nie tylko w części eksperymentalnej pracy i jej nowatorskich wynikach. Ich wyrazem są również rozdziały części teoretycznej rozprawy, w których przedstawiła Doktorantka z dużym znanstwem m.in. rys historyczny fitoterapii jako stosowanego od tysiącleci systemu terapeutycznego, scharakteryzowała znaczenie przeciwutleniaczy, w tym pochodzenia roślinnego, podała charakterystykę wyselekcjonowanych do analiz szczepów bakteryjnych, opisała badane surowce roślinne w zakresie kompozycji związków czynnych, działania i zastosowania. Z drugiej strony budzi pewien niedosyt zbyt powierzchowna charakterystyka składu chemicznego niektórych surowców, co komplikuje ocenę i właściwą interpretację wyników analiz jakościowych w odniesieniu do twierdzeń „potwierdzono obecność” „zidentyfikowano” związek/związki po raz pierwszy? w badanych matrycach. Z opracowania naukowego, jakim jest rozprawa doktorska należy wykluczyć pozycje o charakterze popularno-naukowym, autorów spoza dyscypliny naukowej jaką jest farmakognozja i fitochemia (poz. piśmiennictwa 59, 60). Również cytowanie opracowań fitoterapeutycznych w opisie składu chemicznego niektórych badanych surowców nie jest zasadne (poz. 61, 62, 197). Właściwym uzupełnieniem informacji o składzie chemicznym zamieszczonych w części teoretycznej dla niektórych badanych surowców są dane literaturowe, cytowane przez Doktorantkę w omówieniu wyników.

Szczególną wartość poznawczą posiada rozdział stanowiący opracowanie, bazujące na zebranych przez Autorkę danych piśmiennictwa oraz wiedzy doskonalonej w trakcie wykonywania pracy doktorskiej a dotyczący testów EDA, w tym przede wszystkim bioautografii. W tym obszarze, analizując również dotychczasowy dorobek publikacyjny Doktorantki, należy podkreślić, że jest Ona wysokiej klasy specjalistą (współautorstwo 6 publikacji poza dorobkiem opublikowanym z wyników rozprawy doktorskiej). Mgr Wioleta Jesionek jest autorką i współautorką dwóch przeglądowych artykułów naukowych i współautorką rozdziału w monografii, w których przedstawiono m. in. znaczenie testów EDA w ocenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Niewątpliwie realizacja powyższego tematu pracy doktorskiej pod kierunkiem specjalisty w dziedzinie dr hab. Ireny Chomy prof. nadzw., rozwinęła umiejętności Doktorantki, poszerzyła Jej warsztat pracy, i zaowocowała zdobyciem ogromnego doświadczenia w obszarze bioautografii.

Przedstawiona praca doktorska stanowi bardzo obszerne opracowanie przedstawione na 186 stronach będące potwierdzeniem dużej liczby przeprowadzonych eksperymentów oraz szczególnego zaangażowania Doktorantki w realizację tematu. Konstrukcja pracy jest przejrzysta z podziałem na wstęp i część teoretyczną liczące 65 stron, dwustronicowy cel pracy, część doświadczalną (26 stron), omówienie wyników badań (87 stron) oraz wnioski i osiągnięcia. W zakończeniu dysertacji Doktorantka zamieściła streszczenie w języku angielskim oraz spis piśmiennictwa, który stanowią 244 pozycje. Lekturę pracy ułatwia zamieszczony spis skrótów i akronimów. Należy podkreślić, że pod względem edytorskim praca nie budzi zastrzeżeń a szata graficzna, zamieszczenie 27 tabel i 60 rycin stanowiących w większości wideoskany chromatogramów TLC oraz bioautogramy obok chromatogramów HPLC-MS, dobrze dokumentuje przebieg wykonywanych eksperymentów.

W obliczu dużej objętości pracy Autorka nie uniknęła, jakkolwiek nielicznych błędów typograficznych (np. str. 95, 97, 111, 125, 128), oraz użycia niewłaściwej terminologii np. „rozseparowanych” zamiast „rozdzielonych” (str. 157 wers 8., str. 128 wers 7), „sposobów fragmentacji” zamiast „ścieżek fragmentacji” (str. 91, wers 9) . Doktorantka nadużywa terminu „rozdział” w odniesieniu do procesu chromatograficznego, a według „Słownika chromatografii i elektroforezy” pod redakcją Zygfrieda Witkiewicza i Jacka Hetpera poprawnym jest użycie „rozdzielanie”. Również w stwierdzeniu na str. 79 wers 19 zastrzeżenia budzi niewłaściwa terminologia „derywatyzację przeprowadzono spryskując równomiernie rozwinięte i wysuszone .... płytki TLC” powinno być „chromatogramy TLC”, „płytki po spryskaniu wygrzewano .... przy użyciu wygrzewacza do płytek” powinno być płyty grzewczej (jakkolwiek Doktorantka używa właściwego terminu na str. 75 wers 8). W sprzeczności pozostają stwierdzenia Autorki: na stronie 128 stwierdza „Analizy.....wobec 9 szczepów bakteryjnych potwierdziły aktywność tymolu i karwakrolu w olejku” a na str. 115 opisuje, że „zarówno dla olejku jak i ekstraktu strefy zahamowania wzrostu bakterii nie były widoczne dla karwakrolu”. W tab. 7 jest napisane „masa związku”, powinno być „masa cząsteczkowa związku”, w tekście pracy wartości liczbowe mas cząsteczkowych i m/z są opisane niejednokrotnie z kropką zamiast prawidłowo z przecinkiem.


Wymienione powyżej uwagi, w mojej opinii, nie mają wpływu na całościową wysoką ocenę przedstawionej dysertacji, posiadającej znaczące walory poznawcze. Otrzymane wyniki stanowią znaczący wkład do wiedzy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych znanych i powszechnie wykorzystywanych w lecznictwie surowców roślinnych. Zakres

przeprowadzonych badań dowodzi ogromnej pracowitości Doktorantki i konsekwentnego dążenia do realizacji założonych celów.

Potwierdzeniem wysokiej wartości naukowej rozprawy jest opublikowanie przez jej Autorkę 6 artykułów naukowych, w tym 4 eksperymentalnych i 2 przeglądowych o łącznej wartości IF = 7,050 prezentujących wyniki rozprawy oraz stanowiących treści jej rozdziałów teoretycznych. Godnym podkreślenia jest fakt, że Doktorantka w trakcie realizacji tematu doktorskiego nawiązała współpracę z szeregiem ośrodków naukowych zarówno krajowych jak i zagranicznych, co jest dobrą perspektywą dla Jej dalszego samodzielnego rozwoju naukowego i świadczy o umiejętnościach osiągnięcia sukcesów w zespołach interdyscyplinarnych.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że przedstawiona do recenzji praca jest ambitnym przedsięwzięciem wymagającym od Doktorantki szeregu umiejętności z zakresu analizy złożonych matryc roślinnych, w tym wykorzystania zaawansowanych technologicznie metod identyfikacji związków czynnych jak i oceny ich aktywności biologicznej, co upoważnia mnie do wystąpienia z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału o dopuszczenie mgr Wiolety Jesionek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dysertacja spełnia wymagania Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dn. 14 marca 2003 r. (art. 13, ust.1) a zakres jej osiągnięć upoważnia mnie jako recenzenta do wystąpienia do Wysokiej Rady z wnioskiem o jej wyróżnienie.

Kierownik  
Katedra i Zakład Farmakognozji  
z Ogródem Roślin Leczniczych  
Gdańskie Uniwersytecie Medyczne  
  
prof. dr hab. n. farm. Mirosława Krauze-Baranowska