

Streszczenie rozprawy doktorskiej „Przeciwbakteryjna i przeciwgrzybowa aktywność ekstraktów otrzymanych z wybranych gatunków roślin”

Obecny stan chorób cywilizacyjnych do jakich zalicza się zarówno grzybice jak i gruźlicę jest wypadkową narastającej oporności mikroorganizmów na dostępne antybiotyki, ale także ich znaczną toksycznością. W związku z tym, źródłem nowych terapeutyków z powodzeniem mogą stać się rośliny.

Celem niniejszej pracy było otrzymanie i analiza aktywności przeciwbakteryjnej oraz przeciwgrzybowej ekstraktów z łodyg podkwiatostanowych pelargonii rabatowej *Pelargonium zonale* oraz z nasion ślazuwca pensylwańskiego *Sida hermaphrodita*, które zostały wyselekcjonowane z szeregu ekstraktów poprzez uprzednie określenie ich aktywności typu lizozymu.

Ekstrakt z łodyg podkwiatostanowych pelargonii rabatowej wykazywał skutecznie i istotne statystycznie działanie na komórki prątków *M. smegmatis* w stężeniach białka 50-150 µg/ml, a na komórki grzybów *C. albicans* szczepu dzikiego w stężeniach 37,5-50 µg/ml. Oddziaływanie ekstraktu na komórki prątków i drożdży zostało przeanalizowane z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej oraz elektronowej. Działanie ekstraktu z łodyg podkwiatostanowych prowadziło do spadku przeżywalności prątków oraz dezintegracji ścian komórkowych bakterii. W przypadku komórek *C. albicans* po inkubacji z ekstraktem obserwowano znaczne obniżenie aktywności metabolicznej, a w konsekwencji apoptozę i nekrozę części komórek. Dodatkowo, efektem oddziaływania ekstraktu z łodyg podkwiatostanowych na komórki drożdży były deformacje ściany komórkowej, zmiany kształtu i rozmiaru komórek, formowanie pseudostrzępek oraz jednobiegunowy wzór pączkowania komórek, identyfikowany jako zaburzenie podziałowe.

Ekstrakt z nasion *S. hermaphrodita* oddziaływał na komórki prątków *M. smegmatis*, w statystycznie istotny sposób, w stężeniach 50-150 µg/ml, obniżając przeżywalność bakterii oraz indukując zmiany w strukturze ściany komórkowej prątków. Analiza aktywności przeciwgrzybowej ekstraktu z nasion ślazuwca pensylwańskiego obejmowała zbadanie wpływu surowego ekstraktu z nasion, ekstraktu po dializie oraz frakcji ekstraktu zawierających związki różnych masach cząsteczkowych (poniżej 30 kDa, w przedziale 50-100 kDa, powyżej 100 kDa) na komórki drożdży z rodzaju *Candida*. Stwierdzono, że zarówno surowy ekstrakt z nasion *S. hermaphrodita* jak i ekstrakt po dializie, w sposób istotny statystycznie obniżał

aktywność metaboliczną komórek *C. albicans* szczepu dzikiego w stężeniach 12,5-200 µg/ml. Co więcej, analiza aktywności metabolicznej wykazała, że komórki szczepu wzorcowego *C. albicans* ATCC 10231 oraz *C. krusei* ATCC 6258 były mniej wrażliwe na działanie ekstraktu z nasion *S. hermaphrodita*. W przypadku frakcji otrzymanych z ekstraktu z nasion, największy spadek aktywności metabolicznej komórek drożdży zanotowano po zastosowaniu frakcji zawierającej związki o masie cząsteczkowej przekraczającej 100 kDa (w stężeniach 25-100 µg/ml). Analizy z zastosowaniem technik mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej, transmisyjnej, mikroskopii sił atomowych, a także spektroskopia w podczerwieni wskazały, że ekstrakt z nasion oddziaływał na ścianę komórkową drożdży *C. albicans* szczepu dzikiego. Potwierdzają to zmiany strukturalne w ścianie, wzrost średniej grubości ściany komórkowej w porównaniu do komórek kontrolnych, a także liczne deformacje powierzchni ściany grzybów, obserwowane w obrazie mikroskopowym.

Analiza cytotoksyczności względem fibroblastów skóry ludzkiej pozwoliła stwierdzić, że ekstrakt z nasion *S. hermaphrodita*, w przeciwieństwie do ekstraktu z łodyg podkwiatostanowych, nie wykazywał działania cytotoksycznego. W związku z tym, kolejny etap badań związany był z charakterystyką biochemiczną i proteomiczną ekstraktu z nasion. Wykorzystując techniki spektroskopowe, spektrometryczne oraz elektroforetyczne stwierdzono białkowo-węglowodanowy charakter ekstraktu z nasion ślazuwca pensylwańskiego. Analiza proteomiczna MALDI i ESI LC-MS/MS uwidoczniała w ekstrakcie typowe dla nasion białka i peptydy o charakterze strukturalnym, zapasowym i enzymatycznym. W profilu białkowym ekstraktu oznaczono także białka i peptydy o charakterze przeciwdrobnoustrojowym, zidentyfikowane jako wicyliny oraz białka transportujące lipidy.

Słowa klucze: *Candida albicans*, *Mycobacterium smegmatis*, ślazuwiec pensylwański, pelargonie rabatowa, ekstrakty roślinne, roślinne peptydy przeciwdrobnoustrojowe

Kimje Lasteh