



Zakład Farmakognozji
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2a, 15-230 Białystok, Polska
tel.: 85-748-56-92; fax.: 85-748-54-16
e-mail: michal.tomczyk@umb.edu.pl



Białystok, 22 stycznia 2020 r.

RECENZJA rozprawy doktorskiej
„Analiza profilu polifenolowego i aktywności biologicznej liści *Sorbus domestica* L.”

mgr farm. Magdaleny Rutkowskiej (z domu Matczak)
wykonanej pod kierunkiem Dr hab. n. farm. Moniki A. Olszewskiej, prof. UM
w Zakładzie Farmakognozji Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego
w Łodzi

Rośliny, ich skład oraz właściwości lecznicze to wspólnie rosnący nurt naukowy, który w wielu przypadkach okazuje się niezastąpionym źródłem wiedzy na temat nie tylko poznania samego chemizmu niebadanych do tej pory surowców ale i poznania prawdopodobnych właściwości leczniczych. Oparte na różnych modelach farmakologicznych badania, w modelach *in vitro*, *in vivo* czy badania kliniczne, potwierdzają zasadność stosowania przetworów roślinnych jako środków leczniczych, jednakże dla wielu surowców są w większości przypadków w dalszym ciągu niewystarczające aby stwierdzić, że są nie tylko bezpieczne ale również skuteczne. Medycyna naturalna oparta na faktach (*Evidence-Based Medicine*) stanowi obecnie podstawę racjonalnej fitoterapii, nie zawsze docenianej, a wręcz pomijanej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska wpisuje się w bardzo aktualny nurt prowadzonych badań w zakresie substancji pochodzenia naturalnego/roślinnego opisujących kompleksową i bardzo precyzyjną analizę profilu fitochemicznego krajowego surowca roślinnego liścia jarząbu domowego *Sorbus domestica* L. (Rosaceae) w aspekcie obecnych w nim związków polifenolowych jak i wielokierunkowej aktywności biologicznej. Dodatkowo dokonana została porównawcza analiza zarówno fitochemiczna jak i ocena aktywności biologicznej liści jarząbu domowego uzyskanego z terenu Bałkanów. Co ważne, poza aspektem poznawczym bardzo czytelnie doktorantka wskazuje na potencjalne wykorzystanie analizowanego surowca w produkcji suplementów diety czy zastosowaniu jako czynnika żywności funkcjonalnej. Tym bardziej, że w ostatnim czasie widoczny jest wzrost liczby wprowadzanych preparatów/suplementów zawierających surowce pozyskiwane z gatunków drzew i krzewów owocowych w tym liścia porzeczki czarnej czy liści gatunków z rodzaju *Rubus* L. malina-jeżyna (Rosaceae).

Przedstawiona rozprawa doktorska Pani mgr farm. Magdaleny Rutkowskiej została złożona do oceny w formie jednotematycznego cyklu czterech publikacji oryginalnych.

Wszystkie z wymienionych prac zostały opublikowane w latach 2018-2019 w prestiżowych czasopismach tematycznych znajdujących się na liście filadelfijskiej: *Journal of Functional Foods* (IF=3.197, MNiSW=100), *Phytochemistry Letters* (IF=1.338, MNiSW=70), *Molecules* (IF=3.06, MNiSW=100) oraz *Acta Biologica Cracoviensia - Seria Botanica* (IF=1.111, MNiSW=40) – **łącznie IF=8.706, MNiSW=310**. Prace bez wątpienia zostały poddane bardzo rygorystycznemu procesowi oceny recenzenckiej. Mgr farm. Magdalena Rutkowska jest pierwszym autorem we wszystkich wymienionych w rozprawie pracach, co wskazuje na Jej wiodący charakter, zarówno w udziale wykonawczym jak i w ich opublikowaniu. Dodatkowym potwierdzeniem powyższej oceny jest, nie tylko fakt prowadzenia korespondencji w ramach trzech manuskryptów, jak również dość wysoki 60% udział w ich tworzeniu czego potwierdzeniem są uzyskane stosowne oświadczenia od współautorów prac włączonych do cyklu publikacji stanowiącego rozprawę doktorską.

Mgr farm. Magdalena Rutkowska postawiła sobie za zadanie, rozwiązanie szeregu ambitnych celów naukowych uwzględniających wzorowo przemysłane poszczególne etapy badawcze z zakresu analizy farmaceutycznej roślinnego surowca leczniczego – liścia jarząbu domowego. Poza uwzględnieniem rozpoznania składu fitochemicznego surowca w oparciu o opracowane i w pełni zwalidowane analizy nowej metody chromatograficznej (HPLC-DAD). Doktorantka podjęła się również bardzo pracochłonnego procesu izolacji związków w tym skomplikowanej ich identyfikacji strukturalnej w oparciu o najnowocześniejsze techniki spektralne. Podjęła się jednocześnie odpowiedzi na pytania dotyczące wskazania związków (markerów aktywnych) oraz mechanizmów odpowiedzialnych za przypisywane surowcowi działania antyoksydacyjne oraz przeciwzapalne. Dodatkowo oceniła bezpieczeństwo stosowania ekstraktów z jarząbu domowego poprzez analizę ich wpływu na przeżywalność jednojądrzastych komórek krwi obwodowej. Całość dopełniła przeprowadzona analiza statystyczna. Na podkreślenie całości rozprawy doktorskiej zasługuje nieprzypadkowe zestawienie poszczególnych publikacji stanowiące wyczerpujące studium naukowe zapewne bardzo wysoko ocenione w procesie recenzji redakcyjnej, co bez wątpienia dla mnie jako recenzenta, jest znaczącym ułatwieniem w jego merytorycznej ocenie. Pewnym brakującym ogniwem który dopełniłby i tak wzorowo zrealizowanej całości, byłoby opracowanie i opublikowanie obszernego materiału poglądowego o fitochemizmie i aktywności biologicznej zbadanych do tej pory na świecie gatunków z rodzaju *Sorbus* L. Takiego opracowania w światowej literaturze naukowej, a szczególnie w jego kompletnej i właściwej formie nie odnajduję.

Praca Pani Rutkowskiej zawiera szereg właściwie postawionych hipotez badawczych w pełni zweryfikowanych. Weryfikacja w oparciu o wiele technik badawczych czasami wykraczającymi poza eksperyment fitochemiczny, pokazała wysoki warsztat badawczy i doskonale przygotowanie do pracy naukowej. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż rozprawa doktorska, w tym materiał badawczy i uzyskane przez Panią mgr Rutkowską wyniki zestawione w cykl publikacyjny zawiera szereg elementów nowości naukowej. Przeprowadzona szczegółowa analiza zarówno jakościowa jak i ilościowa technikami chromatograficznymi w tym UHPLC-DAD-ESI-MS czy HPLC-DAD pozwoliła po raz pierwszy na zidentyfikowanie w badanym gatunku ponad 40 związków polifenolowych jak i wskazanie ich wysokiej zawartości. Po raz pierwszy wyizolowała i zidentyfikowała w rodzaju

Sorbus L. dwie glikozydowe pochodne kwercetyny: 3-O-(2''-O-β-D-glukopiranozylo)-α-L-ramnopiranozyd kwercetyny oraz 3-O-(2''-O-β-D-ksylopiranozylo)-α-L-ramnopiranozyd kwercetyny. Tutaj również wykazała się doktorantka bardzo specjalistyczną wiedzą pozwalającą na właściwą interpretację badań spektralnych obejmujących analizę NMR w tym widm korelacyjnych 2D NMR: COSY, HMBC czy HMQC. Nie pomijam wcześniej wspomnianego faktu walidacji nowej metody chromatograficznej do po raz pierwszy przeprowadzonego jednoczesnego oznaczenia 9 związków polifenolowych w tym (-)-epikatechniny, procyjanidyny B2, procyjanidyny C1, kwasu chlorogenowego, kwercetyny, kwercytryny, rutyny oraz dwóch nowo wyizolowanych glikozydowych pochodnych kwercetyny.

Poza precyzyjną charakterystyką fitochemiczną Pani Rutkowska wykazała protekcyjne działanie uzyskanych z liści *S. domestica* ekstraktów oraz oznaczonych polifenoli wobec składników ludzkiego osocza w warunkach stresu oksydacyjnego indukowanego anionem nadtlenoazotynowym (ONOO⁻) czy zdolność do zwiększania nieenzymatycznej pojemności antyoksydacyjnej osocza. Kolejne etapy badań biologicznych udokumentowano w zakresie szerokiego spektrum działania *in vitro* ekstraktów oraz ich składników wobec szeregu zastosowanych czynników utleniających. W tym przypadku odnaleziono istotną korelację wskazującą na niwelowanie reaktywnych form tlenu/azotu jako jeden z potencjalnych mechanizmów zaobserwowanej aktywności biologicznej. Dodatkowo, potwierdzono interakcje pomiędzy reprezentatywnymi grupami związków aktywnych obecnych w ekstraktach a ich aktywnością biologiczną. Ostatecznym etapem badań była analiza składu i aktywności biologicznej liści pochodzących z uprawy krajowej oraz materiału roślinnego zebranego z terenu Chorwacji. Wyniki tych badań potwierdziły w zasadzie równocześnie analizowanych prób surowców z niewielkimi różnicami w zawartościach dwóch głównych grup związków a mianowicie flawonoidów i proantocyjanidyn. Z pewnością surowiec wymaga dalszych specjalistycznych badań farmakologicznych obejmujących między innymi model *in vivo* co zdecydowanie przybliży surowiec do ewentualnego wprowadzenia do skutecznej i bezpiecznej fitoterapii.

Niezwykle wysoko oceniam rangę i znaczenie wielokierunkowych badań podjętych w zespole badawczym Pani Prof. Moniki A. Olszewskiej i Jej współpracowników w tym mgr Magdaleny Rutkowskiej. Lektura dysertacji uprawnia do stwierdzenia, że Autorka wykazała się wyjątkową zdolnością w opanowaniu szeregu nowatorskich technik pracy w laboratorium nie tylko fitochemicznym ale i biologicznym. Przedstawione w poszczególnych publikacjach a zestawione z wprost „*benedyktyńską dokładnością*” wyniki badań oraz obszerne i co istotne zrozumiałe dyskusje potwierdzają dojrzałość jak i dociekliwość badawczą Doktorantki oraz umiejętność rozwiązywania problemów badawczo-naukowych.

Na szczególną uwagę zasługuje również dotychczasowy całkowity dorobek naukowy mgr farm. Magdaleny Rutkowskiej obejmujący między innymi autorstwo i współautorstwo 11 prac oryginalnych o łącznym współczynniku IF=29.859 (MNiSW=565), a także 4 prac przeglądowych o łącznej punktacji MNiSW=26. Wyrazem naukowego zaangażowania oraz przygotowania do pracy naukowej jest pozyskanie przez mgr Rutkowską grantu NCN w ramach konkursu PRELUDIUM 14 obejmujące badania biologiczne kolejnego surowca - owocu jarząbu pospolitego *Sorbus aucuparia* L.

Podsumowując, jednoznacznie stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr farm. Magdaleny Rutkowskiej jest niezwykle wartościowa zarówno z naukowego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Wnoszę tym samym do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr farm. Magdaleny Rutkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z racji na wysoką wartość merytoryczną rozprawy potwierdzoną również wysokim sumarycznym wskaźnikiem IF/punkty MNiSW cyklu publikacji ujętych w rozprawę wnoszę o jej wyróżnienie.



Dr hab. n. farm. Michał Tomczyk

Kierownik Zakładu Farmakognozji
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku