



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

dr hab. n. farm. Agnieszka Szopa, prof. UJ
Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Medyczna 9
30-688 Kraków

Kraków, 10.05.2023

R E C E N Z J A

rozprawy doktorskiej zatytułowanej
„Kultury transformowanych korzeni i pędów *Salvia bulleyana* Diels
jako źródło bioaktywnych metabolitów”
wykonanej przez mgr Martę Annę Krzemińską
w Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Katedrze Biologii i Biotechnologii
Farmaceutycznej, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Promotor pracy - prof. UM, dr hab. n. farm. Izabela Grzegorzczak-Karolak

Rozprawa doktorska mgr Marty Krzemińskiej, to bardzo interesujące i wartościowe opracowanie obejmujące nowoczesne badania biotechnologiczne, fitochemiczne i biologiczne promujące możliwość wykorzystania kultur transformowanych gatunku *Salvia bulleyana* Diels, jako potencjalnego, alternatywnego źródła surowca roślinnego o znaczeniu leczniczym.

Rozprawę doktorską mgr farm. Marty Krzemińskiej stanowi **spójna tematycznie monografia**. Ponadto część uzyskanych wyników została upubliczniona w **trzech publikacjach oryginalnych opublikowanych w latach 2020-2022**:

- **Wojciechowska M.**, Owczarek A., Kiss A. K., Grąbkowska R., Olszewska M. A., Grzegorzczak-Karolak I.: Establishment of hairy root cultures of *Salvia bulleyana* Diels. for production of polyphenolic compounds. *Journal of Biotechnology*, 2020, 318, 10-19.
- **Krzemińska M.**, Owczarek A., Gonciarz W., Chmiela M., Olszewska M., Grzegorzczak-Karolak I.: The Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial potential of phenolic acids-enriched extract of elicited hairy roots of *Salvia bulleyana*. *Molecules*, 2022, 27 (3), 1-20.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

- **Krzemińska M.**, Owczarek A., Olszewska M. A., Grzegorzczak-Karolak I.: *In vitro* strategy for the enhancement of the production of bioactive polyphenols in transformed roots of *Salvia bulleyana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23 (14), 1-18.

Publikacje zostały poddane z pewnością profesjonalnemu trybowi edytorskiemu i zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych tj. : *Journal of Biotechnology* (MEiN = 70, IF₂₀₂₃ = 3,595), *Molecules* (MEiN = 140, IF₂₀₂₃ = 4,927) i *International Journal of Molecular Sciences* (MEiN = 140, IF₂₀₂₃ = 6,208). **Całkowita wartość współczynnika oddziaływania Impact factor (IF) tych trzech prac wynosi 14,73, co odpowiada 350 pkt MEiN.** We wszystkich wskazanych pracach, Pani Marta Krzemińska pełni rolę pierwszego autora, a autorem korespondencyjnym jest Pani Promotor - prof. UM, dr hab. n. farm. Izabela Grzegorzczak-Karolak. Wyniki obejmujące zakres rozprawy doktorskiej zostały również w latach 2019-2022, zaprezentowane w postaci **ośmiu doniesień zjazdowych** na konferencjach krajowych; w formie siedmiu prezentacji posterowych oraz jednej prezentacji ustnej. Ponadto Doktoranta prezentowała wyniki uzyskanych badań w formie dwóch wystąpień ustnych (w 2020 i 2022 r.) na spotkaniach organizowanych w ramach szkoleń ciągłych prowadzonych przez Oddział Łódzki Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego.

Nadrzędnym celem pracy było zastosowanie wybranych technik biotechnologicznych dla uzyskania wysoko produktywnych kultur korzeni i pędów transformowanych *S. bulleyana*. W ramach pracy: potwierdzono transformację czterech klonów korzeni transformowanych oraz spontanicznie zregenerowanych pędów transgenicznych *S. bulleyana* otrzymanych w wyniku zakażenia szczepem *Rhizobium rhizogenes*. Przeprowadzono analizę fitochemiczną z użyciem nowoczesnych technik chromatograficznych metanolowo-wodnych ekstraktów z korzeni i pędów transformowanych *S. bulleyana*. Dokonano selekcji klonu korzeni włósnikowatych charakteryzującego się najwyższą produktywnością, a następnie przeprowadzono optymalizację warunków wzrostu korzeni transformowanych obejmującą dobór odpowiedniego podłoża hodowlanego, stężenia witamin oraz sacharozy w podłożu, a także warunków oświetlenia w celu otrzymania jak najwyższego przyrostu biomasy oraz produkcji metabolitów. Następnie dokonano oceny wpływu elicytorów biotycznych i abiotycznych na produkcję związków polifenolowych w korzeniach transformowanych.

W kolejnej części pracy poddano optymalizacji warunki wzrostu pędów transgenicznych *S. bulleyana* w zakresie doboru jakościowego i ilościowego (stężenia) cytokininy, warunków świetlnych



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

prowadzenia kultur, a także oceniono wpływ płynnych hodowli na akumulację biomasy i produkcję związków czynnych.

W pracy podjęto próbę zwiększenia skali hodowli korzeni i pędów transformowanych w komercyjnych systemach okresowo-zalewowych (TIS) - Plantform i Rita, oraz dokonano wstępnej oceny aktywności biologicznej ekstraktów przygotowanych z wybranego materiału z transformowanych kultur *S. bulleyana*.

Doktoranta umiejętnie wskazała najlepsze wyniki, odniosła je do danych etnofarmakologicznych porównując je do innych gatunków rodzaju *Salvia* i zaproponowała potencjalne kierunki rozwoju swoich dalszych badań nad gatunkiem *S. bulleyana*.

Pani mgr Marta Krzemińska w przeprowadzonej pracy wykazała się znajomością i umiejętnością wykorzystania zarówno klasycznej, jak i nowoczesnej metodyki badawczej z różnych dyscyplin naukowych, zarówno z biotechnologii roślin, chemii analitycznej, fitochemii, mikrobiologii i statystyki.

Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Rozprawę doktorską stanowi spójna tematycznie monografia zbierająca przeprowadzone prace eksperymentalne dotyczące badań biotechnologicznych, fitochemicznych i oceny aktywności biologicznej kultur transformowanych gatunku *Salvia bulleyana*.

Rozprawa doktorska składa się z 10 rozdziałów podzielonych na liczne podrozdziały. Najważniejsze części pracy to: *Wstęp* – w którym przedstawiono charakterystykę botaniczno-chemiczno-ekologiczną gatunku *S. bulleyana*, ogólną charakterystykę polifenoli, diterpenów i kwasów organicznych, charakterystykę biotechnologii roślin w ujęciu farmakologicznym, przegląd badań dotyczących kultur transformowanych gatunków z rodzaju *Salvia*. W kolejnym rozdziale sformułowano *Cel pracy*. Następnie szczegółowo przedstawiono *Materiały i metodykę* badawczą. Kolejno zaprezentowano uzyskane *Wyniki* uwzględniając ich analizy statystyczne. Przeprowadzono *Dyskusję* najważniejszych wyników z pracami innych autorów w której Doktorantka trafnie wyciągnęła najważniejsze *Wnioski*, podkreśliła wartościowe aspekty przeprowadzonych badań, oraz



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

zasygnalizowała pytania naukowe do rozwiązania w przyszłości. Pracę zamyka *Streszczenie* w języku polskim i angielskim oraz *Bibliografia* w której zebrano, aż 317 pozycji literaturowych.

Tekst rozprawy obejmuje 240 stron. W pracy zamieszczono 62 wykresy, 17 fotografii (rycin) i 23 tabele (brakuje ich wykazu w pracy). Cytowane pozycje bibliograficzne trafnie korespondują z opisywaną problematyką.

Manuskrypt charakteryzuje staranne opracowanie. Praca jest poprawna pod względem formalno-językowym.

Ocena merytoryczna i metodologiczna rozprawy doktorskiej

Celem pracy doktorskiej mgr Marty Krzemińskiej były badania z zakresu biotechnologii roślin, fitochemii oraz aktywności biologicznej, kultur transformowanych wschodnioazjatyckiego gatunku rodzaju *Salvia* - *Salvia bulleyana*. Rośliny o znaczeniu leczniczym, znanym z tradycyjnej medycyny chińskiej, charakteryzującej się obecnością tanszidonów oraz związków polifenolowych.

We Wstępie pracy przedstawiono charakterystykę botaniczno-ekologiczną *S. bulleyana* odnosząc się do innych znanych gatunków rodzaju *Salvia*. Następnie scharakteryzowano najważniejsze metabolity wtórne wpływające na właściwości biologiczne *S. bulleyana* w oparciu o przegląd najnowszych badań naukowych. W trzeciej części wprowadzenia, przedstawiono informacje ogólne dotyczące biotechnologii roślin oraz głównych kierunków badawczych tej dziedziny istotnych z farmaceutycznego punktu widzenia. Na ich tle przedstawiono prace z zakresu transformacji genetycznej gatunków rodzaju *Salvia* ze szczególnym uwzględnieniem bogatego doświadczenia z tego zakresu pracowników Katedry Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej UM w Łodzi.

Wybór obiektu rozprawy doktorskiej, jak również zrealizowane cele badawcze uważam za stosowne i bardzo interesujące. Dane literaturowe wskazują na duży potencjał leczniczy *S. bulleyana*, który wymaga potwierdzenia badaniami naukowymi. Ograniczony zasięg występowania gatunku dodatkowo podkreśla słuszność podjęcia badań z zakresu biotechnologii roślin. W tym świetle podjęcie udanej próby inicjacji kultur *in vitro*, w tym kultur transformowanych oraz oznaczenia profilu



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

fitochemicznego, oraz zbadania aktywności biologicznej uzyskanych ekstraktów są niezwykle cenne i interesujące.

Pani mgr Marta Krzemińska swoje pierwsze doświadczenie w pracach związanych z biotechnologią roślin zdobyła już w czasie realizacji pracy magisterskiej zatytułowanej: „Transformacja *Salvia bulleyana* Diels przy użyciu *Agrobacterium rhizogenes*”, której opiekunem była dr hab. Izabela Grzegorzczak-Karolak, a promotorem – prof. dr hab. Halina Wysokińska. W ramach tej pracy Pani Magister uzyskała po raz pierwszy kultury korzeni transgenicznych *S. bulleyana*. Wyniki uzyskane w ramach pracy magisterskiej, okazały się być bezcenne, albowiem stały się podwaliną do realizacji pracy doktorskiej.

W pracy doktorskiej Pani mgr Krzemińska testowała **dwie rodzaje transformowanych kultur *in vitro* *S. bulleyana* – kultury korzeni oraz pędów**. Jakościową identyfikację związków w ekstraktach wodno-metanolowych z hodowanej biomasy przeprowadzono z zastosowaniem ultra wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas (UHPLC-PDA-ESI-MS). Analizy ilościowe przeprowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). W ekstraktach zidentyfikowano 11 związków: kwas rozmarynowy (RA) i jego pochodne, kwas kawowy i jego pochodne, kwas salwianolowy K, pochodne kwasu litospermowego i izomery kwasu salwianolowego FI i FII.

W poszczególnych doświadczeniach oznaczano też metodą spektrofotometryczną: całkowitą zawartość związków polifenolowych (TPC), zawartość barwników fotosyntetycznych (chlorofilu a, chlorofilu b i karotenoidów), aktywność enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej – SOD, peroksydazy - POD i katalazy - CAT) oraz zawartość białka w materiale roślinnym.

W ramach prac, których celem była optymalizacja prowadzenia kultur **korzeni transformowanych *S. bulleyana***, testowano 4 klony – C1-C4. Optymalizacja hodowli objęła szeroki zakres badań - testowanie rodzaju podłoża hodowlanego, stężenia witamin, zawartości sacharozy, warunków świetlnych, stosowania elicytorów oraz czasu trwania cyklu wzrostowego. W wyniku przeprowadzonej serii doświadczeń jako najkorzystniejszy wytypowano klon C4 hodowany w ciemności w podłożu ½SH (Schenka i Hildebrandt'a) zawierającym połowę standardowej zawartości witamin, 3% sacharozy oraz 40-dniowy okres wzrostu. Dla tych kultur korzeni włósnikowatych uzyskano najwyższe przyrosty biomasy i 2-krotnie wyższą produkcję związków polifenolowych (TPC)



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

(93,6 mg/g SM) niż przed optymalizacją. Wartość ta była też 4-krotnie wyższa niż oznaczona w ekstraktach z korzeni 2-letnich roślin macierzystych. W odniesieniu do zawartości kwasu rozmarynowego (RA) (70,0 mg/g SM), w 40 dniu hodowli w zoptymalizowanych warunkach uzyskano 2 razy więcej tego związku niż w ekstraktach z kultur przed optymalizacją i 8-krotnie więcej niż w ekstraktach z korzeni roślin macierzystych. W ramach kolejno przeprowadzonych eksperymentów związanych ze stymulacją produkcji metabolitów na drodze elicytacji w korzeniach transformowanych, najlepsze wyniki uzyskano po zastosowaniu 100 μ M jasmonianu metylu (MJA) i czasie ekspozycji trwającym 3 dni. Otrzymana w tych warunkach zawartość TPC (124,4 mg/g SM) oraz zawartość RA (110,2 mg/g SM) były odpowiednio 5- i 13-krotnie wyższe od tych stwierdzonych w ekstraktach z korzeni roślin macierzystych.

Testowana w ramach pracy doktorskiej kultura **pędów transformowanych *S. bulleyana*** (P7) powstała w procesie spontanicznej regeneracji z korzeni włóśnikowatych otrzymanych przy udziale *Rhizobium rhizogenes* szczepu A4. Dla tych kultur w ramach przeprowadzonych prac eksperymentalnych wytypowano podłoże MS zestalone agarem (0,7%) z 0,1 mg/l IAA (kwasu indoilo-3-octowego) i 1 mg/l m-Top (meta-topoliny), światło białe LED (spośród testowanych: białego, mieszanego (niebieskie/czerwone), niebieskiego oraz czerwonego) oraz czas wzrostu trwający 5-tygodni, jako najlepsze dla przyrostu biomasy, jak również produkcji metabolitów wtórnych, barwników fotosyntetycznych oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych. W kolejnym etapie testowano dobór jakościowy i ilościowy cytokininy - spośród 3 związków będących pochodnymi 6-benzyloaminopuryny (BAP): rybozydu 6-benzyloaminopuryny (BAPR), meta-topoliny (m-Top) i N-benzylo-9-(2-tetrahydropiranylo)-adeniny (BPA) w stężeniach 0,5, 1,0 lub 2,0 mg/l. BAPR w stężeniach 1 i 2 mg/l wytypowano jako optymalny dla przyrostów biomasy oraz produkcji metabolitów wtórnych w kulturach pędów transformowanych *S. bulleyana*. Uzyskana w tych warunkach zawartość RA i TPC były odpowiednio 3- i 2- krotnie wyższe od oznaczonej w ekstraktach z nadziemnych części roślin macierzystych. Interesującym etapem badań było testowanie różnych materiałów podporowych – nanocelulozy i pianki poliuretanowej, na których rosły pędy transformowane w podłożach płynnych. Najlepsze rezultaty w kwestii przyrostów biomasy uzyskano dla nanocelulozy (współczynnik mnożenia równy 188, 2-krotnie wyższa zawartość TPC (39,6 mg/g SM) niż dla pędów hodowanych w podłożu płynnym bez zastosowania materiału podporowego).



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

W wyniku przeprowadzonej optymalizacji hodowli pędów transformowanych *S. bulleyana*, najwyższą zawartość TPC (39,6 mg/g SM) i RA (34,4 mg/g) osiągnięto w czasie 5-tygodniowej hodowli w świetle białym LED w płynnym podłożu MS zawierającym 0,1 mg/l IAA oraz 1 mg/l BAPR z podporą nanocelulozową; były to wartości, odpowiednio, 3- i ok. 6-krotnie wyższe od tych stwierdzonych w ekstraktach z części nadziemnych roślin macierzystych

Doktorantka w ramach swoich prac związanych z kulturami transformowanymi *S. bulleyana* podjęła również próby prowadzenia hodowli w skali wielkolaboratoryjnej – w komercyjnie dostępnych bioreaktorach okresowo-zalewowych (temporary immersion systems – TIS) - Rita i Plantform. Z powodzeniem wstępnie zoptymalizowała hodowlę korzeni włośnikowatych *S. bulleyana* uzyskując najlepsze wyniki dla bioreaktorów Plantform dla 10 minutowego czasu zalewania w odstępach 3 h, a dla systemów Rita dla 3 minutowego czasu zalewania co 1,5 h. Dla hodowli transformowanych pędów w obu TIS uzyskano istotnie wyższe współczynniki proliferacji i indeksy wzrostu niż dla podłoży stałych czy płynnych. Ekstrakty z pędów charakteryzowały się też ponad 2-krotnie wyższą całkowitą zawartością polifenoli (Plantform - 53,0 mg/g SM; Rita - 47,9 mg/g SM) niż z pędów rosnących na podłożu stałym, a zawartość RA (693,5 mg/g SM) oznaczona w ekstraktach z biomasy hodowanej przez 5 tygodni w TIS była od 7- do 8-krotnie wyższa niż w ekstraktach z ziela rośliny macierzystej. W przypadku kultury korzeni transformowanych produktywność uzyskana w obu TIS była wysoka, ale niższa od uzyskanej dla korzeni transformowanych hodowanych w zoptymalizowanych warunkach w kolbach Erlenmayera.

Prace związane z optymalizacją prowadzenia hodowli kultur transformowanych *S. bulleyana* (korzeniowych i pędowych) związane z uzyskaniem wysokoefektywnej w sensie przyrostów biomasy i produkcji metabolitów wtórnych tkanki zostały scalone i potwierdzone poprzez wykonanie badań aktywności biologicznej uzyskanych ekstraktów. Wyniki przeprowadzonych oznaczeń aktywności antyoksydacyjnej, cytotoksycznej i przeciwdrobnoustrojowej udowodniły wysoki potencjał uzyskanych kultur.

Wykazano korelację aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej testami DPPH, ABTS i NBT, testem redukcji jonów żelaza - FRAP oraz testem zahamowania peroksydacji lipidów – TBARS,



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

z zawartością polifenoli (TPC) w ekstraktach z biomasy *S. bulleyana* otrzymanych z transformowanych organów, zwłaszcza korzeni.

Stwierdzono znaczny potencjał cytotoksyczny ekstraktu z korzeni transformowanych względem linii LoVo i AGS, spośród testowanych linii komórek nowotworowych (ludzkie komórki nowotworowe szyjki macicy – HeLa, ludzkie komórki nowotworowe żołądka – AGS, ludzkie komórki gruczolakoraka okrężnicy – LoVo i mysich fibroblastów – L929).

Screening działania przeciwdrobnoustrojowego (bakterie Gram+: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, bakterie Gram-: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, grzyby: *Candida albicans*, *C. glabrata*.) ekstraktu z korzeni transformowanych wykazał jego umiarkowany potencjał w tym zakresie.

W *Dyskusji* Pani mgr Marta Krzezińska potrafiła umiejętnie wybrać najważniejsze rezultaty, spośród licznych uzyskanych wyników. Doktorantka trafnie przedyskutowała uzyskane wyniki odnosząc je do prac ogólnoswiatowych, oraz prac przeprowadzonych w macierzystej jednostce. Chciałabym w tym miejscu zwrócić uwagę na niewątpliwie wysoką wartość przeprowadzonych prac i zdobytego przez Doktorantkę doświadczenia. Katedra Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi jest jedną z pierwszych w skali ogólnopolskiej, gdzie zainicjowano badania z zakresu biotechnologii roślin, szczególnie kultur transformowanych, w ujęciu farmaceutycznym. Niewątpliwie, wysokie doświadczenie w zakresie prac związanych z biotechnologią roślin o znaczeniu leczniczym, promotora pracy – dr hab. Izabeli Grzegorzczak-Karolak, oraz historia macierzystej jednostki wpłynęły na wysoką jakość powstałej pracy. Cenne umiejętności, które można nabyć tylko w czasie pracy praktycznej z roślinnymi kulturami *in vitro* zostały umiejętnie przekazane Doktorantce i zaowocowały uzyskaniem rozprawy doktorskiej na bardzo wysokim poziomie naukowym.

Pragnę podkreślić, że wskazane najważniejsze rezultaty pracy w znacznej części są innowacyjne w skali ogólnoswiatowej.

W kwestii oceny metodologicznej pracy; *materiały i metodyka* badań została opisana szczegółowo w rozdziale 4 przedstawionej rozprawy doktorskiej. Zakres wykonanych badań i opis



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

metodyki niewątpliwie potwierdza dojrzałość naukową, umiejętności nawiązywania współpracy, oraz znajomość zastosowanych technik badawczych Doktorantki.

Z zaprezentowanej rozprawy doktorskiej wynika przemyślana organizacja pracy oraz bardzo dobre przygotowanie naukowe Doktorantki do pracy naukowej.

Pani mgr Matta Krzezińska wykazała się znajomością różnych metod badawczych – chromatograficznych, spektrofotometrycznych oraz biologicznych. Dzięki temu zostały zrealizowane sformułowane cele badawcze rozprawy doktorskiej. Doktorantka przeprowadziła liczne doświadczenia, często o nowatorskim charakterze. Wyniki swoich badań przedyskutowała z wynikami innych autorów. Zaplanowane bardzo szczegółowo badania biotechnologiczne, oraz badania aktywności biologicznej zostały konsekwentnie zrealizowane w kolejnych doświadczeniach, które zostały opisane w rozprawie doktorskiej i ponadto już częściowo opublikowane w trzech publikacjach o wysokich współczynnikach IF oraz punktacji MEiN: (MEiN = 350, IF = 14,73). We wszystkich pracach wskazanych, jako podstawa rozprawy doktorskiej, Pani Marta Krzezińska pełni rolę pierwszego autora, a autorem korespondencyjnym jest Pani Promotor. Wyniki obejmujące zakres rozprawy doktorskiej zostały również w latach 2019-2022, zaprezentowane w postaci ośmiu doniesień zjazdowych na konferencjach krajowych.

Moje uwagi zamieszczam poniżej:

- Skąd pochodziły eksplantaty (i jaką częścią rośliny one były), które posłużyły do uzyskania eksperymentalnych kultur *in vitro* *S. bulleyana*?
- Czy Doktorantka podjęła lub planuje podjąć próbę, oznaczenia związków z grupy taniszinonów w ekstraktach z prowadzonych kultur *in vitro*?
- Jakie przesłanki zdecydowały o wyborze *trans*-anetolu, jako elicytora w przeprowadzonych eksperymentach?
- Proszę wskazać, czy któreś konkretnie związki zostały zidentyfikowane w ramach przeprowadzonych prac eksperymentalnych w *S. bulleyana* po raz pierwszy?
- Proszę wskazać innowacyjne/nowatorskie aspekty swojej pracy.



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Ocena dorobku naukowego

Pani Marta Krzemińska uzyskała tytuł magistra farmacji w 2018 roku, następnie, rozpoczęła studia doktoranckie w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi na Wydziale Farmaceutycznym.

Pani mgr Marta Krzemińska już w czasie studiów wykazywała zainteresowanie biotechnologią roślin aktywnie uczestnicząc od III roku studiów (2015 r.) w pracach koła naukowego funkcjonującego przy Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. O Jej wysokiej aktywności z tamtego okresu świadczą cztery doniesienia konferencyjne (w latach 2016-2017) Za dwa z nich uzyskała wyróżnienie w postaci II miejsca. Zauważalne jest wczesne ukierunkowanie zainteresowań Doktorantki, albowiem obiektem prac prowadzonych w ramach koła naukowego, jak również Jej pracy magisterskiej, były kultury transformowane *S. bulleyana*. Pani Magister, poza trzema publikacjami będącymi podstawą rozprawy doktorskiej, jest współautorem trzech innych prac, których przedmiotem były badania fitochemiczne i biotechnologiczne gatunku *S. bulleyana* – są to dwie publikacje w *Biomolecules* (2023 i 2021 r. IF₂₀₂₃=6,064) gdzie pełni rolę drugiego i trzeciego autora i jedna publikacja w *Metabolites* (2020 r., IF₂₀₂₃=5,581) gdzie pełni rolę drugiego współautora. Ponadto Pani Magister jest współautorką dwóch prac poglądowych opublikowanych na łamach *Farmacji Polskiej* (MEiN₂₀₂₃=70 pkt) dotyczących znaczenia leczniczego surowców roślinnych - owoców acai i oleozywicy o nazwie guggul.

Pani Magister w czasie studiów doktoranckich zdobyła doświadczenie dydaktyczne prowadząc zajęcia z przedmiotów: Biologia i genetyka, Botanika, Diagnostyka parazytologiczna i Aromaterapia dla studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Pani Magister aktywnie uczestniczyła w akcjach społecznych „Skonsultuj z farmaceutą”, wygłaszała prelekcje w ramach szkoleń ciągłych prowadzonych przez Oddział Łódzki Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego oraz opiekowała się Studentami wizytującymi macierzysty Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej w ramach programu *Student Exchange Programme*.

Na szczególną uwagę zasługuje aktywność zawodowa Pani Marty Krzemińskiej. Już w czasie studiów magisterskich pracowała jako pomoc apteczna, a potem w czasie studiów doktoranckich do chwili obecnej, jako magister farmacji za pierwszym stołem w aptekach ogólnodostępnych.

Dotychczasowy dorobek oraz aktywność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna Pani mgr Marty Krzemińskiej wskazują, że jest Ona dobrą kandydatką do uzyskania stopnia naukowego doktora.



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedłożoną do oceny pracę oceniam bardzo wysoko. Stanowi ona bogate kompendium prac z zakresu biotechnologii roślin gatunku *Salvia bulleyana* w ujęciu aplikacji farmaceutycznych. Wyniki pracy udowadniają po raz pierwszy, w sposób empiryczny, wysoki potencjał biosyntetyczny kultur korzeni transformowanych *S. bulleyana*, oraz ich potencjalną aktywność biologiczną. Wyniki badań, posiadają nie tylko istotne walory poznawcze, ale mają również aplikacyjny charakter. Praca nakreśla możliwości pozyskiwania i wykorzystania innowacyjnych kultur transformowanych *S. bulleyana* we współczesnej fitoterapii.

Biorąc pod uwagę przedstawioną powyżej ocenę rozprawy doktorskiej, stwierdzam, że spełnia ona warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). Zwracam się do członków Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr farm. Marty Anny Krzemińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Ponadto na podstawie Uchwały Senatu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 7/2020 z dnia 29 października 2020 r. w sprawie zmiany uchwały nr 319/2019 z dnia 26 września 2019 r. Senatu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w sprawie Regulaminu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora oraz Regulaminu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi oraz wprowadzenia tekstu jednolitego regulaminu, składam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Katedra i Zakład Botaniki
Farmaceutycznej UJ CM

A. Szopa
dr hab. Agnieszka Szopa, prof. UJ