

Załącznik nr 2



Sebastian Granica

Autoreferat

Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Warszawa 2016

1. Sebastian Granica

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Dyplom magistra farmacji – uzyskany w dniu 31 marca 2010 roku na podstawie obronionej pracy magisterskiej pt. ”Badanie składu jakościowego oraz izolacja wybranych związków z wyciągu wodnego z wytlóków nasiennych *Oenothera paradoxa* Hudziok” wykonanej w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Promotor: prof. dr hab. Marek Naruszewicz, opiekun: dr Anna K. Kiss.

Dyplom magistra – uzyskany w dniu 13 września 2011 roku na podstawie obronionej pracy magisterskiej pt. ”Transformacje chemiczne imperatoryny i ksantotoksyny w poszukiwaniu nowych selektywnych inhibitorów butyrylocholinoesterazy” wykonanej w Pracowni Chemii Związków Pochodzenia Naturalnego Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Promotor: prof. dr. hab. Zbigniew Czarnocki. Praca magisterska została wyróżniona.

Dyplom doktora nauk farmaceutycznych – uzyskany w dniu 29 października 2014 roku uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na podstawie obronionej rozprawy doktorskiej pt. „Analiza fitochemiczna, ocena właściwości przeciwutleniających oraz potencjalnych właściwości przeciwzapalnych wybranych surowców roślinnych z rodziny wiesiołkowatych (Oenotheraceae)”. Promotor: dr hab. Anna K. Kiss, recenzenci: dr. hab. Monika A. Olszewska, dr hab. Adam Matkowski. Praca doktorska została wyróżniona przez Radę Wydziału.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

07.2010 – 04.2014 – pracownik inżynieryjno-techniczny w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

05.2014 – 11.2014 – asystent w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

od 12.2014 – obecnie – adiunkt naukowo-dydaktyczny w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

4. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym.

a) tytuł osiągnięcia naukowego

Analiza fitochemiczna związków polifenolowych i monoterpenowych występujących w wybranych substancjach roślinnych należących do rodzin Asteraceae, Rosaceae oraz Polygonaceae.

b) autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa

H1. Granica, S.*, Quantitative and qualitative investigations of pharmacopoeial plant material *Polygoni avicularis herba* by UHPLC-CAD and UHPLC-ESI-MS methods. *Phytochemical Analysis*, 2015, 26, 374-382 (IF₂₀₁₄ = 2,341, 30 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej oraz przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 100%.

H2. Granica, S.*, Hinc, K., Flavonoids in aerial parts of *Persicaria mitis* (Schrank) Holub. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2015, 61, 372-375 (IF₂₀₁₄ = 0,967, 15 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej, opiece merytorycznej podczas wykonywania badań oraz przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

H3. Granica, S.*, Lohwasser, U., Johrer, K., Zidorn, C., Qualitative and quantitative analyses of secondary metabolites in aerial and subaerial of *Scorzonera hispanica* L. (black salsify). *Food Chemistry*, 2015, 173, 321-331 (IF₂₀₁₄ = 3,391, 40 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej (przygotowanie ekstraktów, izolacja głównych składników, opracowanie metod chromatograficznych oraz opracowanie i walidacja metody oznaczania ilościowego polifenoli) oraz przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

H4. Granica, S., Zidorn, C., Phenolic compounds from aerial parts as chemosystematic markers in the *Scorzonerinae* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2015, 58, 102-113 (IF₂₀₁₄ = 0,967, 15 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej (opracowanie metody chromatograficznej, interpretacja danych spektralnych oraz identyfikacja związków polifenolowych) oraz przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

H5. Granica, S., Piwowarski, J. P., Randazzo, A., Schneider, P., Żyżyńska-Granica, B., Zidorn, C., Novel stilbenoids, including cannabispiradienone glycosides, from *Tragopogon tommasinii* (Asteraceae, Cichorieae) and their potential anti-inflammatory activity. *Phytochemistry*, 2015, 117, 254-266 (IF₂₀₁₄ = 2,547, 35 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej (izolacja i udział w ustalaniu struktury wyizolowanych związków, udział w przeprowadzaniu badań biologicznych wyizolowanych nowych związków polifenolowych) oraz na udziale w przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 66%.

H6. Granica, S.*, Kluge, H., Horn, G., Matkowski, A., Kiss, A. K., The phytochemical investigation of *Agrimonia eupatoria* L. and *Agrimonia procera* Wallr. as valid sources of *Agrimoniae herba* - The pharmacopoeial plant material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2015, 114, 272-279 (IF₂₀₁₄ = 2,979, 35 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej (opracowanie metody analitycznej, przeprowadzenie oznaczeń i interpretacja wyników) oraz na przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

H7. Fusani, P., Piwowarski, J. P., Zidorn, C., Kiss, A. K., Scartezzini, F., Granica, S.*, Seasonal variation in secondary metabolites of edible shoots of Buck's beard [*Aruncus dioicus* (Walter) Fernald (Rosaceae)]. *Food Chemistry*, 2016, 202, 23-30 (IF₂₀₁₄ = 3,391, 40 pkt MNiSW)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej (opracowanie metody analitycznej, przeprowadzenie oznaczeń i interpretacja wyników) oraz na przygotowaniu manuskryptu opisującego uzyskane wyniki. Mój udział procentowy szacuję na 45%.

* - prace w których występowałem w roli autora korespondencyjnego

Sumaryczny współczynnik oddziaływania *Impact Factor* (IF) publikacji wytypowanych do cyklu w postępowaniu habilitacyjnym wynosi 16,583, punkty MNiSW – 205

- c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Analiza fitochemiczna odgrywa kluczową rolę w określaniu składu, standaryzacji oraz kontroli jakości produktów zawierających materiał pochodzenia roślinnego. Produkty pochodzenia roślinnego są powszechne w życiu codziennym. Stanowią znaczącą część diety człowieka, a także są szeroko stosowane w medycynie i farmacji. Podstawowym narzędziem w badaniach dotyczących składu materiału roślinnego są metody chromatograficzne takie jak wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) czy chromatografię cienkowarstwową (TLC). Dynamiczny w ostatnich dekadach rozwój technik chromatograficznych polegający na ciągłym ulepszaniu metod detekcji oraz rozdzielu złożonych mieszanin zawierających związki organiczne spowodował, że analiza fitochemiczna stała się niezwykle efektywna, niezawodna i użyteczna. Analiza składu i standaryzacja produktów spożywczych pochodzenia roślinnego oraz roślinnych surowców leczniczych odgrywa istotną rolę w zapewnieniu ich bezpieczeństwa i jakości, a w przypadku preparatów leczniczych także ich skuteczności w procesie terapeutycznym [1]. Zarówno w piśmiennictwie naukowym jak i w ciągle aktualizowanych monografiach specjalistycznych (monografie farmakopealne, ESCOP itp.) pojawia się coraz więcej nowoczesnych metod przeznaczonych do potwierdzania tożsamości, badania zafałszowań oraz standaryzacji substancji pochodzenia roślinnego. Dlatego też zasadne wydaje się być ciągle poszerzanie wiedzy dotyczącej składu chemicznego substancji pochodzenia roślinnego, a w szczególności opracowywanie nowych metod ich analizy.

Podstawową i najszerszej stosowaną metodą detekcji w fitochemicznej analizie chromatograficznej jest pomiar spektrofotometryczny pozwalający na identyfikację wykrywanych związków na podstawie ich zdolności pochłaniania światła z zakresu UV-Vis.

Detekcja UV jest powszechnie używana do analizy jakościowej (w połączeniu z wyznaczeniem właściwości chromatograficznych badanej substancji takich jak np.: czas retencji) oraz analizy ilościowej związków pochodzenia naturalnego jednakże jej podstawowym ograniczeniem jest konieczność posiadania dobrego chromoforu przez oznaczaną substancję. Modyfikacją prostych detektorów UV-Vis są urządzenia posiadające matryce diodową (DAD lub PDA) dostarczające dodatkowych danych przy analizie takich jak widmo UV-Vis wykrytych związków. Detekcja DAD jest szczególnie przydatna w fitochemicznej analizie jakościowej. Jednakże, w ostatnich dekadach obserwuje się wzmożony rozwój detektorów opartych na spektrometrii mas. Urządzenia te charakteryzują się wysoką czułością i dostarczają wyjątkowo użytecznych danych takich jak masa cząsteczkowa analizowanego związku czy widmo fragmentacyjne pozwalające na oznaczenie charakterystycznych cech strukturalnych wykrytych substancji. Inną kategorię urządzeń stanowią tzn. detektory uniwersalne takie jak detektor laserowy światła rozproszonego (ELSD) oraz detektor wyładowań koronowych (CAD). Oba detektory są stosunkowo nowymi urządzeniami wykorzystywanymi w chromatografii stąd też w dostępnym piśmiennictwie brakuje doniesień na temat możliwości ale i ograniczeń ich zastosowania w analizie fitochemicznej [4].

Detektor CAD umożliwia oznaczanie ilościowe nielotnych związków chemicznych w połączeniu z metodami chromatograficznymi. Po raz pierwszy do rutynowej analizy został wprowadzony w 2002 przez Dixona i Petersona [2]. Zgodnie z piśmiennictwem największą zaletą CAD jest uniwersalna odpowiedź nie wymagająca obecności chromoforu w strukturze analizowanych związków oraz pozwalająca na bezpośrednie oznaczanie dowolnej substancji bez konieczności stosowania odpowiedniego wzorca chemicznego [3, 4]. W piśmiennictwie istnieją doniesienia dotyczące możliwości zastosowania CAD w analizie ilościowej związków pochodzenia naturalnego, szczególnie w analizie saponin, aminokwasów oraz cukrów stvarzających problemy w przypadku zastosowania tradycyjnych metod detekcji [5-7]. Jednakże brakuje doniesień wskazujących na możliwość użycia CAD w analizie ilościowej innych grup substancji pochodzenia naturalnego np. polifenoli.

Innym aspektem analizy fitochemicznej jest możliwość jej zastosowania w badaniach taksonomicznych roślin [8]. Praktyka pokazuje, że poszczególne taksony bardzo często można rozróżnić poprzez analizę ich składu chemicznego. Dostępne piśmiennictwo pokazuje, że wiele grup metabolitów wtórnych (np. polifenole czy seskwiterpenoidy) mogą służyć za doskonałe markery chemotaksonomiczne w obrębie poszczególnych rodzin, rodzajów a nawet gatunków [9-11]. Badania taksonomiczne są szczególnie istotne w kontekście konieczności

poprawnej identyfikacji i odpowiedniego doboru materiału roślinnego stosowanego w lecznictwie.

Dodatkowo należy wspomnieć, że substancje pochodzenia roślinnego od dawna są znanym i cenionym źródłem aktywnych biologicznie związków chemicznych. Wiele z nich zostało z powodzeniem wprowadzonych do lecznictwa bądź stanowiło inspirację dla chemików organików w otrzymywaniu nowych leków syntetycznych przeznaczonych do terapii wielu schorzeń [12]. Stąd też kompleksowa analiza fitochemiczna uwzględniająca izolację metabolitów wtórnych występujących w badanym materiale roślinnym nierzadko przyczynia się do odkrycia nowych związków pochodzenia naturalnego o obiecującej aktywności biologicznej.

Głównymi założeniami przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego były:

- opracowanie metod chromatograficznych służących do potwierdzenia tożsamości oraz standaryzacji farmakopealnych substancji roślinnych *Polygoni avicularis herba* i *Agrimoniae herba* [H1 oraz H6]
- izolacja i identyfikacja związków polifenolowych z rdestu łagodnego (*Persicaria mitis*) pod kątem powiązań chemotaksonomicznych w obrębie rodzaju *Polygonum sensu lato* [H2]
- opracowanie metod analitycznych oraz kompleksowa analiza składu jakościowego i ilościowego korzenia wężymordu czarnego (*Scorzonera hispanica*) oraz młodych pędów parzydła leśnego (*Aruncus dioicus*) [H3 oraz H7]
- analiza chromatograficzna wyciągów przygotowanych z roślin z rodzajów wężymord (*Scorzonera*) oraz kozibród (*Tragopogon*) pod kątem powiązań chemotaksonomicznych; izolacja głównych składników polifenolowych z części nadziemnych *Tragopogon tomassinii* oraz ocena potencjalnej aktywności przeciwzapalnej wyizolowanych związków [H4 oraz H5]

Opracowanie metod chromatograficznych służących do potwierdzenia tożsamości oraz standaryzacji farmakopealnych substancji roślinnych *Polygoni avicularis herba* i *Agrimoniae eupatoriae herba*

Rdest ptasi (*Polygonum aviculare*) jest jednoroczną rośliną zielną występującą w klimacie umiarkowanym na całym świecie. Roślina ta ma płożącą (rzadko wznoszącą się) łodygę oraz

eliptyczne, drobne, sinozielone, krótkoogonkowe liście z pochwą obejmującą łodygę [13, 14]. Części nadziemne rdestu ptasiego (*Polygoni avicularis herba*) są tradycyjnie stosowaną roślinną substancją leczniczą posiadającą swoją monografię w Farmakopei Europejskiej 8.0. Napary przygotowane z ziela rdestu ptasiego są używane przez pacjentów w leczeniu chorób nerek, stanów zapalnych pęcherza moczowego oraz jako łagodny środek wykrztuśny i sekretolityczny [15, 16]. Jednakże w dostępnym piśmiennictwie brak jest badań naukowych potwierdzających zasadność stosowania tego surowca w terapii wyżej wymienionych schorzeń.

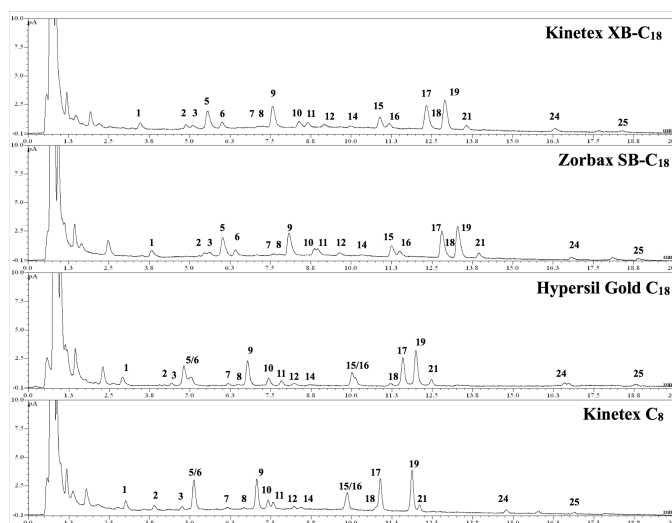
Monografia farmakopealna definiuje ziele rdestu ptasiego jako całe bądź pocięte, wysuszone kwitnące części nadziemne pozyskiwane z *Polygonum aviculare sensu lato*. Najnowsze badania taksonomiczne dotyczące rdestu ptasiego pokazują, że w obrębie gatunku zbiorowego *Polygonum aviculare sensu lato* można wyróżnić co najmniej siedem odrębnych taksonów w randze gatunku bądź podgatunku [17]. Zgodnie z wymogami farmakopei wszystkie te taksony mogą być traktowane jako farmakopealna substancja lecznicza. Jednakże w piśmiennictwie nie ma badań dotyczących składu chemicznego i ewentualnych różnic fitochemicznych pomiędzy poszczególnymi gatunkami/podgatunkami. Zgodnie z Farmakopeą Europejską 8.0 potwierdzanie tożsamości ziela rdestu ptasiego jest oparte na prostej analizie TLC mającej na celu potwierdzenie obecności kwasu chlorogenowego i kawowego przy równoczesnym wykluczeniu obecności hiperozydu (3-*O*-galactopiranozydu kwercetyny) w badanym materiale. Monografia wspomina również o możliwości wykrycia obecności innych flawonoidów, ale nie precyzuje o jakie związki konkretnie chodzi. Standaryzacja ziela rdestu ptasiego jest oparta na oznaczaniu sumy flawonoidów badanym materiale w przeliczeniu na hiperozyd. Surowiec spełnia wymagania gdy suma flawonoidów jest większa równa 0.3%. Metoda zawarta w farmakopei nie determinuje zawartości poszczególnych związków. Dostępne na rynku polskim i zagranicznym podręczniki a także większość starszych prac naukowych podaje, że ziele rdestu ptasiego zawiera śluz, garbniki, związki krzemu oraz flawonoidy głównie proste pochodne kwercetyny, kemferolu i mirycetyny. Często awikularyna (3-*O*-arabinofuranozyd kwercetyny) jest podawana jako dominujący związek w ziele rdestu ptasiego [13, 15, 16]. Wykonane przeze mnie uprzednio badania dotyczące składu jakościowego ziela rdestu ptasiego dowiodły, że badany materiał zawiera szereg glukuronidów flawonolowych jako dominujące składniki wyciągów wodno-metanolowych przygotowywanych z tego surowca [18, 19].

Ze względu na brak w dostępnym piśmiennictwie nowoczesnej metody analitycznej pozwalającej na oznaczenie zawartości głównych flawonoidów występujących w ziele rdestu

ptasiego moim celem było opracowanie i zwalidowanie procedury oznaczania ilościowego dominujących w badanym materiale glukuronidów flawonolowych z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem wyładowań koronowych oraz spektrometrem mas (UHPLC-CAD oraz UHPLC-ESI-MS). Podjąłem również próbę oceny zmienności składu chemicznego materiału pochodzącego z różnych źródeł.

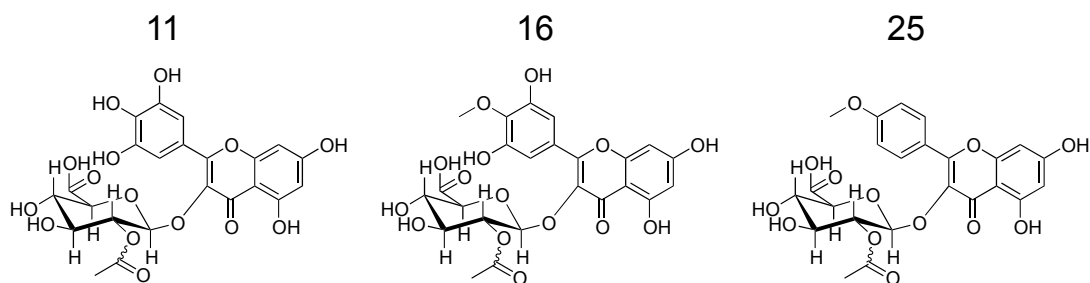
Materiał do badań został zebrany ze stanu naturalnego w różnych regionach Polski lub został zakupiony w postaci preparatów dostępnych na rynku w Polsce, Portugalii oraz Austrii. Próbkę została zidentyfikowana przeze mnie na podstawie cech morfologiczno-anatomicznych zgodnie z monografią farmakopealną.

Podczas pierwszego etapu badań przeprowadziłem izolację wzorca potrzebnego do oznaczeń ilościowych. Wzorcem tym był 3-*O*-glukuronidu kwercetyny. Związek ten został wyizolowany ze wzbogaconych frakcji otrzymanych podczas przeprowadzonych przeze mnie wcześniej prac izolacyjnych dotyczących badanego materiału [18]. Następnie przeprowadziłem optymalizację ekstrakcji związków polifenolowych z próbek ziela rdestu ptasiego. Wykazałem z użyciem UHPLC, że trójkrotna ekstrakcja z użyciem 70% roztworu metanolu w wodzie wspomagana ultradźwiękami prowadzi do wyczerpującej ekstrakcji badanego materiału. Kolejnym etapem przeprowadzonych badań było zoptymalizowanie rozdziału związków polifenolowych zawartych w przygotowanych próbkach. Najlepszy efekt otrzymałem stosując kolumnę wypełnioną modyfikowanym żelem krzemionkowym C₁₈ zawierającym dodatkowe grupy izobutyłowe (faza stacjonarna XB-C₁₈ wedle nomenklatury firmy Phenomenex) stosując elucję gradientową mieszaninami woda-acetonitryl zawierającymi 0.1% kwas mrówkowy jako modyfikator (porównanie rozdziału z użyciem różnych kolumn chromatograficznych prezentuje Rys. 1).



Rysunek 1. Porównanie rozdziału związków polifenolowych w wyciągu z ziela rdestu ptasiego z użyciem różnych kolumn chromatograficznych.

Analiza jakościowa przygotowanych wyciągów z użyciem metody UHPLC-ESI-MS wykazała, że zawierają one 25 głównych związków polifenolowych, głównie flawonoidy. Większość z wykrytych związków została zidentyfikowana na podstawie widm fragmentacyjnych zgodnie z dostępnym piśmiennictwem [18, 20, 21] (dokładne dane chromatograficzne i spektrometryczne zawiera Tabela 2 publikacji H1). Biorąc pod uwagę moje poprzednie doświadczenia związane z identyfikacją flawonoidów w ziele rdestu ptasiego trzy z wykrytych polifenoli zostały wstępnie zidentyfikowane jako nowe wcześniej nie opisywane acetylowane pochodne glukuronidów kemferydu, mirecytyny oraz mersetyny. Jednakże dokładna struktura (pozycja grupy acetylowej w cząsteczce) nie mogła zostać przypisana z użyciem zastosowanej metodyki (proponowane struktury nowych związków prezentuje Rys. 2). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w przeprowadzonych badaniach jakościowych potwierdziły się moje poprzednie obserwacje [19] pokazujące, że badany materiał nie zawiera bądź zawiera śladowe ilości kwasu chlorogenowego oraz kawowego, które są stosowane jako markery w analizie TLC prezentowanej w monografii farmakopealnej. Stąd też wydaje się być zasadne stwierdzenie, że istnieje konieczność zmiany metodologii zawartej w farmakopei dotyczącej potwierdzania tożsamości ziele rdestu ptasiego.



Rysunek 2. Proponowana struktura chemiczna nowych acetylowanych glukuronidów mirycetyny (11), mersetyny (16) oraz kemferydu (25). Uwaga umiejscowienie grupy acetylowej jest losowe, może ona być przyłączona w pozycji 2'' lub 3''.

Analiza ilościowa polifenoli w ziele rdestu ptasiego potwierdziła, że badany materiał zawiera glukuronidy flawonolowe jako dominujące składniki. W przeprowadzonych przeze mnie badaniach oznaczyłem zawartość 12 głównych związków wykrytych w trakcie przeprowadzonych analiz została oznaczona jako ekwiwalenty 3-O-glukuronopiranozydu kwercetyny (dokładne dane dotyczące zawartości poszczególnych związków w badanych próbkach zawiera tabela 5 publikacji H1). Na uwagę zasługuje fakt, że opracowana metoda została zwalidowana zgodnie z wymogami ICH. Istotnie jest również zastosowanie po raz kolejny w badaniach fitochemicznych detektora wyładowań koronowych (CAD), który jest urządzeniem rzadko stosowanym w analizie fitochemicznej. Opracowana i przedstawiona

przeze mnie metoda potwierdza, że CAD może z powodzeniem być stosowany w analizie związków polifenolowych i stanowi dobrą alternatywę dla tradycyjnie stosowanej detekcji spektrofotometrycznej.

Drugą farmakopealną substancją leczniczą, której poświęciłem swoją uwagę w badaniach jest ziele rzepiku (*Agrimoniae herba*). Przeprowadzone badania są również kontynuacją prac prowadzonych przeze mnie przed uzyskaniem stopnia doktora lecz nie związanych z moją pracą doktorską [20].

Rodzaj *Agrimonia* L. zawiera 16 gatunków wieloletnich roślin zielnych występujących wyłącznie na półkuli północnej. Najpopularniejszymi w Europie gatunkami z rodzaju rzepik są: rzepik pospolity (*Agrimonia eupatoria* L.) oraz rzepik wonny (*Agrimonia procera* Wallr.). Oba gatunki można rozróżnić morfologicznie analizując wygląd ich hypancjum, owoców oraz liści, jednakże nie jest to proste [17]. W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć co najmniej kilka prac dotyczących badania składu chemicznego ziela rzepiku pospolitego [22-28]. Brak jest natomiast prac skupiających się na analizie fitochemicznej ziela rzepiku wonnego.

Agrimoniae herba jest farmakopealną substancją leczniczą pozyskiwaną tylko i wyłącznie z rzepiku pospolitego. Posiada również swoją monografię przygotowaną przez ESCOP oraz EMA [29, 30]. Na uwagę zasługuje fakt, że przygotowana przed laty monografia Niemieckiej Komisji E definiuje ziele rzepiku jako części nadziemne pozyskiwane zarówno z rzepiku pospolitego jak i wonnego [31]. Taka sama definicja jest przedstawiana przez podręcznik pod redakcją Wichtla [16].

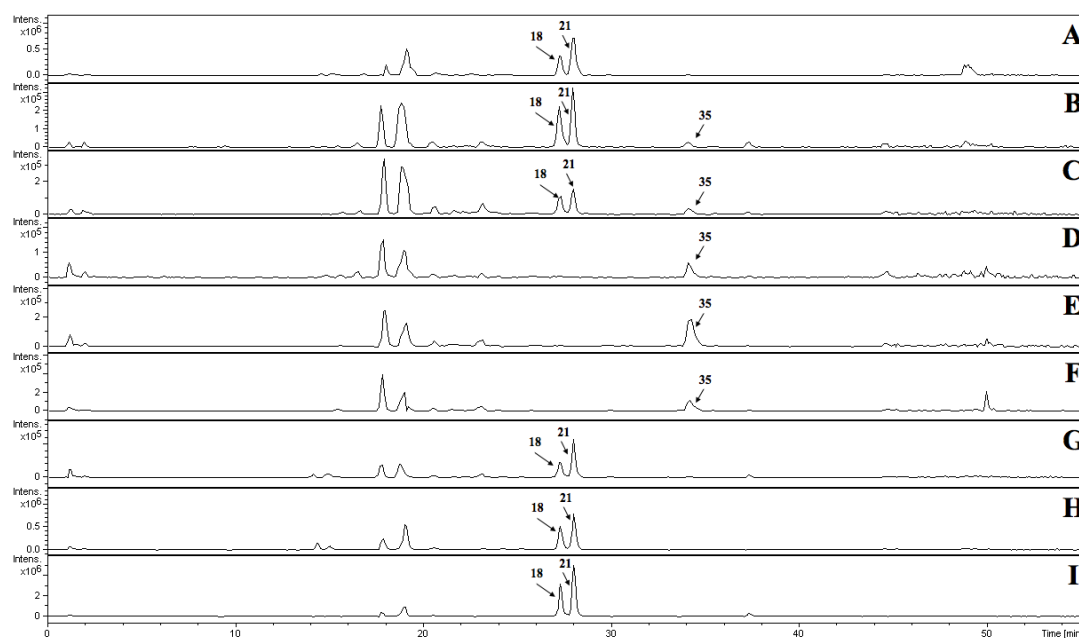
Potwierdzenie tożsamości ziela rzepiku zawarte w monografii farmakopealnej jest oparte na analizie TLC. Tożsamość zostaje potwierdzona, jeżeli przeprowadzona analiza wykaże obecność izokwercytryny (3-*O*-glukopiranozydu kwercetyny) , rutyny (3-*O*-rutynozydu kwercetyny) oraz hiperozydu (3-*O*-galaktopinazydu kwercetyny). Standaryzacja ziela rzepiku polega na oznaczaniu sumy garbników z zastosowaniem proszku skórzanego. Badany materiał powinien zawierać co najmniej 2% garbników w przeliczeniu na pirogalol.

Celem przeprowadzonych przeze mnie badań było porównanie składu jakościowego oraz zawartości agrymoniny (głównego elagotanoidu występującego w ziele rzepiku) w próbkach ziela rzepiku pospolitego oraz wonnego zebranych z uprawy i stanu naturalnego, a także analiza próbek materiału komercyjnego dostępnego na rynku w Polsce i Portugalii. Podjąłem również próbę opracowania metody pozwalającej na rozróżnienie obu badanych gatunków na podstawie składu chemicznego.

Analiza fitochemiczna składu została przeprowadzona za pomocą opracowanej i zwalidowanej przeze mnie metody HPLC-DAD-MS opisanej we wcześniej opublikowanej pracy [20].

Przeprowadzone przeze mnie badania pozwoliły na wykrycie w sumie 39 związków polifenolowych w badanych próbkach należących do grupy kwasów fenolowych, flawonoidów (flawonów i flawonoli), pochodnych flawan-3-olu oraz elagotanoidów. Wstępna analiza (przypisanie do konkretnej grupy metabolitów wtórnych) została przeprowadzona na podstawie charakterystycznych maksimów absorpcji w rejestrowanym widmie UV-Vis. Dalsza identyfikacja została osiągnięta poprzez analizę widm fragmentacyjnych oraz poprzez porównania z dostępnymi wzorcami chemicznymi [21, 32]. Szczegółowe dane dotyczące identyfikacji wykrytych związków są zawarte w Tabeli 2 publikacji H6.

Dokonując porównania składu chemicznego obu gatunków rzepiku udało mi się odkryć, że rzepik pospolity w przeciwieństwie do rzepiku wonnego zawiera *C*-glikozydowe połączenia apigeniny (witeksynę i izowiteksynę). Z drugiej strony stwierdziłem, że rzepik wonny jest źródłem 7-*O*-glukozydu apigeniny, którego nie wykryłem w rzepiku pospolitym. Ilustracją zaobserwowanych różnic są chromatogramy jonowe (Rys. 3) analizowanych próbek rzepiku wonnego (D-F) i pospolitego (G-I) wykreślone dla jonów o m/z charakterystycznym dla opisywanych związków.



Rysunek 3. Chromatogramy jonowe wykreślone dla $m/z = 431$. 18 –witeksyna, 21 – izowiteksyna, 35 7-*O*-glukozyd apigeniny.

Stwierdziłem, że zaobserwowane różnice mogą być użyteczną cechą diagnostyczną pozwalającą na odróżnienie wyciągów przygotowywanych z obu gatunków rzepiku. Badając

próbki komercyjne (A-C, Rys. 3) zauważyłem, że poza częściami nadziemnymi rzepiku pospolitego mogą one zawierać zanieczyszczenie w postaci ziela rzepiku wonnego.

Poza różnicami jakościowymi podczas swoich badań zaobserwowałem również istotne różnice w składzie ilościowym pomiędzy wyciągami przygotowanymi z obu gatunków analizowanej rośliny. W badanych próbkach oznaczyłem z użyciem HPLC-DAD zawartość głównego elagotanoidu (agrymoniny) oraz całkowitą zawartość garbników zgodnie z metodą podaną w monografii farmakopealnej. Otrzymane wyniki prezentuje Tabela 1.

Stwierdziłem, że badane próbki rzepiku wonnego (D-F) zawierają znacznie więcej agrymoniny niż próbki ziela rzepiku pospolitego (H-I). Obserwowane różnice są znamienne statystycznie, podczas gdy wyniki oznaczenia całkowitej zawartości garbników metodą z proszkiem skórzanym nie pokazały różnic istotnych statystycznie. Ważne jest, że zgodnie z dostępnym piśmiennictwem agrymonina jest związkiem o udokumentowanym działaniu biologicznym i przez niektórych autorów jest uważana za składnik aktywny ziela rzepiku [33-35]. Otrzymane wyniki pozwoliły po raz pierwszy na kompleksową ocenę składu wyciągów z ziela rzepiku wonnego. Pokazały również, że surowiec ten zawiera znacznie większą zawartość biologicznie czynnej agrymoniny niż części nadziemne rzepiku pospolitego. Wykazane różnice w składzie chemicznym analizowanych roślin pozwoliły na wskazanie potencjalnych markerów chemotaksonomicznych dla obu gatunków. Przeprowadzone badania w mojej opinii wskazują na konieczność zmiany farmakopealnej monografii ziela rzepiku i na konieczność poszerzenia definicji tego surowca roślinnego o części nadziemne rzepiku wonnego.

Tabela 1. Dane dotyczące zawartości agrymoniny oraz całkowitej zawartości garbników w badanych próbkach

badana próbka	zawartość agrymoniny							całkowita zawartość garbników						
	zawartość(mg/g)			%CV	średnia zawartość (mg/g)			zawartość garbników (%)			%CV	średnia zawartość (%)		
A	1.22	±	0.01	1.09				2.93	±	0.13	4.59			
B	1.98	±	0.01	0.40	2.07 ^a	±	0.90	2.07	±	0.01	0.28	2.30 ^a	±	0.55
C	3.01	±	0.01	0.31				1.90	±	0.02	1.22			
D	37.05	±	0.18	0.47				3.50	±	0.02	0.64			
E	21.31	±	0.21	0.96	28.39 ^b	±	7.99	2.87	±	0.01	0.19	3.02 ^a	±	0.43
F	26.80	±	0.08	0.31				2.68	±	0.12	4.65			
G	6.77	±	0.10	1.41				2.04	±	0.01	0.28			
H	5.00	±	0.07	1.41	4.58 ^a	±	2.43	1.76	±	0.02	1.30	1.83 ^a	±	0.19
I	1.96	±	0.01	0.76				1.68	±	0.02	1.30			

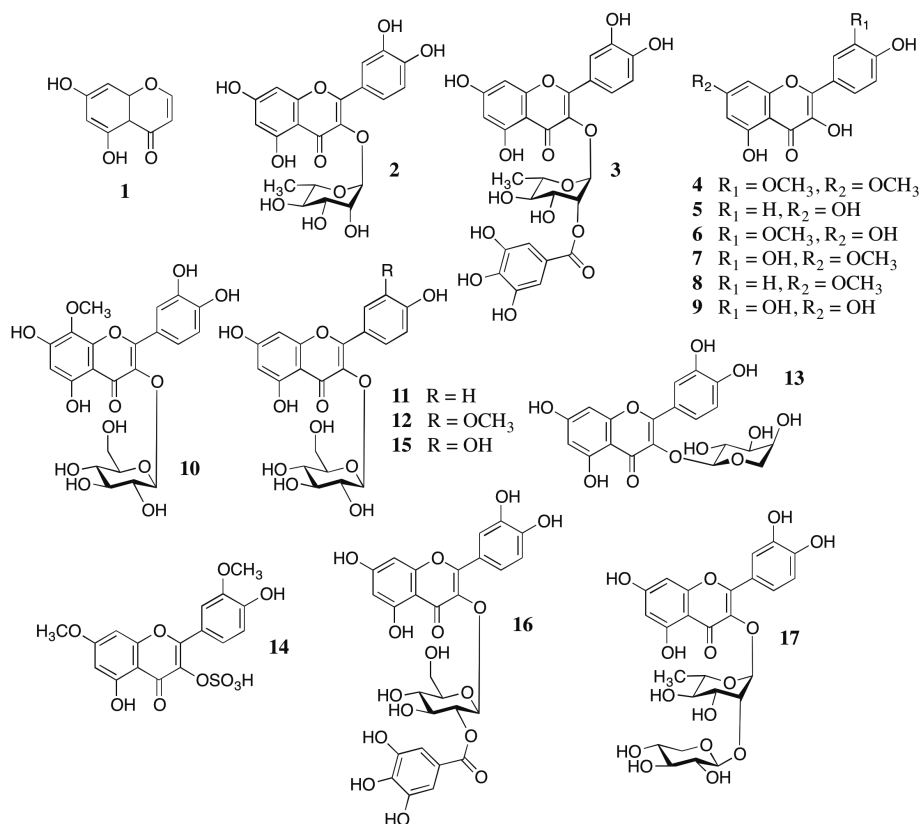
^{a,b} – dla wartości oznaczonych tą samą literą nie obserwowano różnic istotnych statystycznie ($\alpha = 0.01$)

Izolacja i identyfikacja związków polifenolowych z rdestu łagodnego [Persicaria mitis (Schränk) Holub] pod kątem powiązań chemotaksonomicznych w obrębie rodzaju Polygonum sensu lato.

Rdest łagodny (*Persicaria mitis*) jest jednoroczną rośliną zielną o wznoszącej się łodydze występującą na terenach podmokłych w całej Europie [36]. W ostatnim czasie badania filogenetyczne dotyczące roślin należących do rodzaju rdest (*Polygonum sensu lato*) wykazały, że rdest łagodny jest blisko spokrewniony z takimi gatunkami jak rdest ostrogorzki [*Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre] oraz rdest mniejszy [*Persicaria minor* (Huds.) Opiz] [37]. Z dostępnego piśmiennictwa wiadomo, że flawonoidy są uznawane za wartościowe markery chemotaksonomiczne dla wielu taksonów w tym dla rodzaju rdest [10]. Skład chemiczny części nadziemnych rdestu łagodnego był badany w przeszłości trzykrotnie z użyciem metod chromatograficznych [38-40]. Analiza przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej wykazała, że rdest łagodny zawiera szereg prostych kwasów fenolowych, takich jak kwas chlorogenowy, protokatechowy, kawowy, gentyzynowy, *p*-hydroksyfenylooctowy, *p*-hydroksybenzoesowy, *p*-kumarowy, syryngowy, wanilinowy oraz salicylowy [38]. Późniejsze badania przeprowadzone przez tę samą grupę naukowców z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej doprowadziły do identyfikacji szeregu związków flawonoidowych w wyciągach z części nadziemnych tej rośliny [39, 40]. Do zidentyfikowanych związków należały: taksyfolina, luteolina, 3-metylokwercecytryna, kwercetyna, kemferol, ramnetyna, rutyna (3-*O*-rutynozyd kwercetyny), hiperozyd (3-*O*-galaktopiranozyd kwercetyny), izokwercytryna (3-*O*-glukopiranozyd kwercetyny), kwercytryna (3-*O*-ramnopiranozyd kwercetyny), gwajaweryna (3-*O*-abrabipiranozyd kwercetyny), awikularna (3-*O*-arabinofuranozyd kwercetyny), spireozyd (4'-*O*-glukopiranozyd kwercetyny), astragalina (3-*O*-glukopiranozyd kemferolu), 3-*O*-glukuronopiranozyd kwercetyny, 3-*O*-glukopiranozyd izoramnetyny, 8-*O*-glukopiranozyd kwercetyny oraz 3-*O*-(6''-*O*-galoilglukopiranozyd) kwercetyny. Należy zwrócić uwagę, że do tej pory żaden z opisywanych związków nie został wyizolowany z badanego materiału. Dotychczasowa identyfikacja była oparta na porównaniu współczynników R_f lub czasów retencji z dostępnymi wzorcami chemicznymi. Dlatego też opisywane badania mają charakter badań wstępnych.

Celem przeprowadzonych przeze mnie eksperymentów była izolacja głównych składników polifenolowych wyciągów z części nadziemnych rdestu łagodnego, ich identyfikacja z użyciem technik spektralnych oraz dyskusja otrzymanych wyników pod kątem powiązań chemotaksonomicznych w obrębie rodzaju *Polygonum sensu lato*.

Materiał do badań zebrałem we wrześniu 2014 roku i zidentyfikowałem zgodnie z dostępnym kluczem botanicznym [17]. Dodatkowo tożsamość zebranych roślin została zweryfikowana przez prof. Christiana Zidorna z Uniwersytetu w Innsbrucku. Po wysuszeniu części nadziemne zostały zmielone i został z nich przygotowany ekstrakt wodno-metanolowo-acetonowy. Surowy wyciąg został rozfrakcjonowany poprzez ekstrakcję cieczer-ciecz z rozpuszczalnikami o wzrastającej polarności takimi jak chloroform, eter dietylowy, octan etylu oraz *n*-butanol. Surowe frakcje były rozdzielane na kolumnie wypełnionej żel krzemionkowym, a następnie otrzymane frakcje bogate w związki polifenolowe były poddane chromatografii z zastosowaniem złoża Sephadexu LH-20. Ostateczne doczyszczanie poszczególnych związków odbywało się z użyciem wysokosprawnej preparatywnej chromatografii cieczowej na kolumnie wypełnionej modyfikowanym żel krzemionkowym C₁₈. Efektem prowadzonych przeze mnie prac było wyizolowanie 17 związków polifenolowych będących dominującymi składnikami wyciągu wyjściowego (Rys. 4). Struktury chemiczne wszystkich wyizolowanych związków zostały potwierdzone na podstawie widm UV-Vis, MS oraz NMR. Wśród otrzymanych polifenoli zidentyfikowałem 16 flawonoidów (2-17) oraz jedną prostą pochodną kromonu (1). Obecność ośmiu związków 2, 5-7, 9, 11 oraz 13-14 była wcześniej opisywana w piśmiennictwie [39, 40].



Rysunek 4. Struktury chemiczne polifenoli wyizolowanych z części nadziemnych rdestu łagodnego.

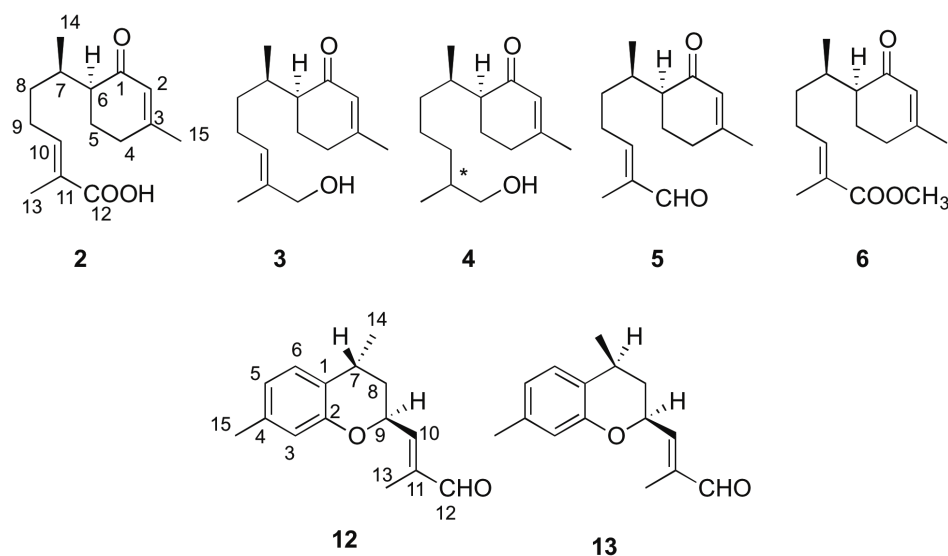
Dziewięć polifenoli (1, 3-4, 8, 10, 12, 15-17) zostało wyizolowanych przeze mnie z badanego materiału roślinnego po raz pierwszy. Większość ze zidentyfikowanych związków (1-7, 9 oraz 16) włączając rzadko występującą w roślinach siarczanową pochodną ramnazyny (16) była opisywana jako składniki wyciągów przygotowywanych z ziela rdestu ostrogorzkiego [41-43]. Fakt ten jest kolejnym dowodem (poza badaniami filogenetycznymi) potwierdzającym bliskie pokrewieństwo obu roślin. Trzy z wyizolowanych i identyfikowanych przeze mnie związków (8, 10 oraz 17) wydają się mieć szczególne znaczenie chemotaksonomiczne. Obecność pochodnych kemferydu, ale nie samego kemferydu, w ziele rdestu ptasiego została opisana przeze mnie wcześniej [18, 44]. Wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań są drugim dowodem na obecność kemferydu w obrębie rodzaju *Polygonum sensu lato* jak i w całej rodzinie *Polygonaceae*. Ponadto, wyizolowany przeze mnie flawonoid będący 3-*O*-glukozydem 8-*O*-metylogosypetyny (10) jest rzadkim związkiem pochodzenia naturalnego i do tej pory jego obecność została stwierdzona tylko raz w kwiatach *Erica cinerea* L. [45] czyli w roślinie całkowicie taksonomicznie niespokrewnionej z badanym przeze mnie surowcem. Związek ten może mieć znaczenie jako potencjalny marker chemotaksonomiczny dla rdestu łagodnego. Wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań także po raz pierwszy wykazały, że jednym z dominujących flawonoidów z badanym materiale jest 3-*O*-(2''-*O*-ksylopiranozylo)-ramnopiranozyd kwercetyny (17). Związek ten był stwierdzony w kilku innych surowcach roślinnych spoza gatunków zaliczanych do rodziny rdestowatych. Ponieważ wspomniany flawonoid występuje w ziele rdestu łagodnego jako dominujący składnik może być użytecznym markerem chemotaksonomicznym pozwalającym na rozróżnienie badanego przeze mnie gatunku od innych blisko spokrewnionych taksonów.

Opracowanie metod analitycznych oraz kompleksowa analiza składu jakościowego i ilościowego korzenia wężymordu czarnego (Scorzonera hispanica) oraz młodych pędów parzydła leśnego (Aruncus dioicus).

Wężymord czarny (*Scorzonera hispanica* L.) jest wieloletnią rośliną zielną należącą do rodziny astrowatych (*Asteraceae*) [13, 17]. Korzeń wężymordu był tradycyjnie stosowany jako łagodny środek pobudzający trawienie, zwiększający perspirację oraz jako łagodny diuretyk [46]. W medycynie ludowej korzeń wężymordu był używany jako antidotum na ukąszenia węży [13]. Obecnie korzeń wężymordu zyskał pozycję popularnego warzywa określanego mianem substytutu szparagów [13]. Niewiele jednak jest wiadomo na temat jego

składu chemicznego. Przeprowadzone badania fitochemiczne dowiodły, że części podziemne wężymordu zawierają seskwiterpenoidy oraz lignany [47, 48]. Brak jest natomiast jakichkolwiek badań dotyczących składu chemicznego części nadziemnych tej rośliny. Celem przeprowadzonych przeze mnie badań było opracowanie zwalidowanej metody analitycznej przeznaczonej do analizy jakościowej i ilościowej głównych składników hydrofilowych wyciągów przygotowanych z nadziemnych i podziemnych części wężymordu. Zająłem się również izolacją i badaniem aktywności biologicznej związków zawartych w lipofilowym wyciągu otrzymanym z korzeni wężymordu.

Pierwszym etapem prowadzonych przeze mnie prac była izolacja głównych składników wyciągu przygotowanego poprzez ekstrakcję zliofilizowanych korzeni wężymordu octanem etylu. Wstępny rozdział przygotowanego wyciągu przeprowadziłem na kolumnie wypełnionej żelalem krzemionkowym. Kolejne etapy rozdziału otrzymanych frakcji były oparte na chromatografii z użyciem złoża Sephadex LH-20. Do ostatecznego oczyszczania użyłem wysokosprawnej preparatywnej chromatografii cieczerwowej. W efekcie z badanego materiału wyizolowałem 12 głównych składników o charakterze lipofilowym. Wśród wyizolowanych związków zidentyfikowałem przy pomocy metod spektralnych (głównie na podstawie eksperymentów 1D i 2D NMR) jeden lignan (syringarezynol), cztery pochodne kwasów tłuszczowych, dwie pochodne kurkumenu (Rys. 5) oraz pięć rzadkich pochodnych bisabolanu (Rys. 5).



Rysunek 5 Struktura chemiczna wyizolowanych i zidentyfikowanych pochodnych bisabolanu (2-6) oraz kurkumenu (12-13). Zachowano numerację pochodzącą z publikacji H3).

Z wyjątkiem syringarezynolu oraz puliglutonu (5) obecność wszystkich wyizolowanych przeze mnie związków została potwierdzona w korzeniu wężymordu po raz pierwszy. Jeden związek (2) został przeze mnie wyizolowany i zidentyfikowany jako nowa

substancja pochodzenia naturalnego. Syringarezynol oraz pochodne bisabolanu (2-6) zostały użyte do badania ich potencjalnych właściwości cytotoksycznych w stosunku do linii komórek nowotworowych (we współpracy dr Karin Johrer z Tyrolean Cancer Center). W przeprowadzonych wstępnych badaniach antyproliferacyjnych *in vitro* wykazano, że syringarezynol oraz związki (5 i 6) wykazują obiecującą aktywność w stosunku do ludzkich komórek nowotworu jelita grubego.

Kolejną częścią przeprowadzonych przeze mnie prac było opracowanie metody chromatograficznej pozwalającej na identyfikację i oznaczenie zawartości poszczególnych polifenoli w korzeniach i częściach nadziemnych wężymordu czarnego. Z użyciem metody HPLC-DAD-MS³ przeprowadziłem analizę jakościową wyciągów przygotowanych z próbek badanego materiału. Wykryłem w sumie 12 polifenoli należących do grupy flawonoidów (pochodnych kwercetyny i kemferolu) oraz kwasów fenolowych (głównie pochodnych kwasu kawoilochoinowego). Szczegółowe dane dotyczące wykrytych i zidentyfikowanych związków zawiera tabela 3 publikacji H3. Po zakończeniu analizy jakościowej podjąłem próbę opracowania i zwalidowania metody oznaczania wykrytych związków stosując metodę HPLC z detekcją spektrofotometryczną oraz z użyciem detektora wyładowań koronowych. Wykryte związki oznaczyłem jako ekwiwalenty cynaryny (dla wykrytych kwasów fenolowych) oraz kwercetyny (dla wykrytych flawonoli). Prowadzone badania doprowadziły do wyznaczenia głównych parametrów walidacyjnych zgodnie z wymaganiami ICH i pokazały, że opracowana metoda może być rutynowo stosowana do analizy składu próbek ekstraktów przygotowywanych z części nadziemnych i korzenia wężymordu (dane walidacyjne przedstawiłem w tabeli S1 i S2 publikacji H3). Otrzymane wyniki wykazały, że zarówno korzeń jak i ziele wężymordu zawiera pochodne kwasu kawoilochoinowego (kwas chlorogenowy oraz trzy izomeryczne kwasy dikawoilochoinowe) jako dominujące składniki. Należy zauważyć, że w przypadku ziela dodatkowo oznaczono szereg zidentyfikowanych wcześniej flawonoidów, które nie były obecne w próbkach korzenia. Szczegółowe dane dotyczące zawartości poszczególnych związków zawiera tabela 4 publikacji H3. Dane dotyczące walidacji metody przedstawiłem w tabelach S1 i S2 publikacji H3.

Ponieważ wykryte związki polifenolowe zostały przeze mnie oznaczone z użyciem dwóch różnych detektorów (DAD oraz CAD), kolejnym aspektem pracy było porównanie wyników uzyskanych przy pomocy obu urządzeń. Dane dotyczące zawartości związków zostały zamieszczone w tabeli 4 publikacji H3. Analizując otrzymane wyniki stwierdziłem, że w niektórych przypadkach oznaczone zawartości stosując obie metody detekcji są znacząco różne. Należy przy tym zwrócić uwagę, że CAD jest przedstawiany jako detektor o

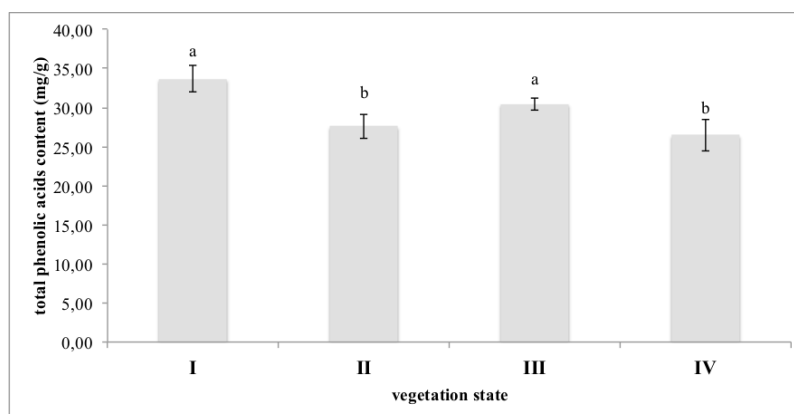
uniwersalnej odpowiedzi tzn. w trakcie analizy przy użyciu detektora CAD sygnał uzyskany dla substancji o różnej strukturze chemicznej występujących w tym samym stężeniu w badanym materiale powinien być jednakowy. W swojej wcześniejszej pracy wykazałem, że faktycznie taka sytuacja ma miejsce jeśli porównujemy wartości otrzymane przy użyciu CAD dla związków należących do tej samej grupy chemicznej o nieznacznie różniące się masie cząsteczkowej [20]. W przypadku detekcji spektrofotometrycznej (np. z użyciem DAD), jeśli nie dysponujemy wzorcem chemicznym, to zawartość danej substancji jest podawana jako ekwiwalenty stosowanego wzorca. Jak wcześniej wspomniałem w trakcie oznaczania polifenoli w wyciągach z wężymordu używałem wzorców zewnętrznych (cynaryny i kwercetyny), stąd też obserwowane różnice w zawartości poszczególnych składników wynikające z danych otrzymanych przy pomocy DAD oraz CAD są jak najbardziej oczekiwane. W prezentowanej pracy po raz kolejny przedstawiłem możliwość praktycznego zastosowania detekcji CAD w oznaczaniu ilościowym polifenoli.

Parzydło leśne [*Aruncus dioicus* (Walter) Fernald] jest wieloletnią rośliną zielną należącą do rodziny różowatych (Rosaceae) [49]. W stanie naturalnym występuje w lasach Europy, Azji oraz Ameryki Północnej. Młode pędy parzydła są pozyskiwane na terenie Tyrolu oraz Północnych Włoch i są stosowane w kuchni jako substytut szparagów [50, 51]. W dostępnym piśmiennictwie brak jest informacji dotyczących składu chemicznego młodych pędów *Aruncus dioicus*. Istnieją jedynie doniesienia dotyczące składu dorosłych części nadziemnych i podziemnych tej rośliny dowodzące, iż zawierają one flawonoidy, kwasy fenolowe, sterole, kwasy tłuszczowe oraz monoterpenoidy [52-54]. Istnieje przekonanie, że zebrane w nieodpowiednim okresie roku pędy parzydła mogą być niejadalne a nawet trujące. Znajduje to potwierdzenie w badaniach dowodzących, iż liście i korzenie *Aruncus* mogą być źródłem glikozydu cyjanogennego – prunazyny [55].

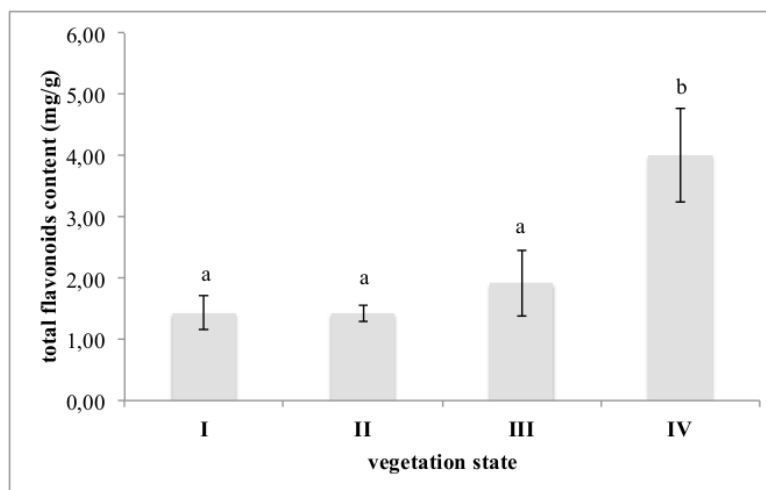
Celem prowadzonych przeze mnie badań było opracowanie kompleksowej metody analizy jakościowej i ilościowej związków polifenolowych występujących w młodych pędach parzydła leśnego na różnych etapach wegetacji. Podjąłem również próbę weryfikacji, czy badany materiał zawiera cyjanogenną prunazynę i czy jej zawartość zmienia się wraz z rozwojem rośliny.

Badany materiał został zebrany na czterech różnych etapach wegetacji w kwietniu 2014 roku w północnych Włoszech przez dra. Pietro Fusaniego z Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'analisi Dell'economia Agraria, Unità di Ricerca per il Monitoraggio e la Pianificazione Forestale. Związki polifenolowe występujące w młodych pędach zostały przeze mnie zidentyfikowane z użyciem metody HPLC-DAD-MS na podstawie widm UV-

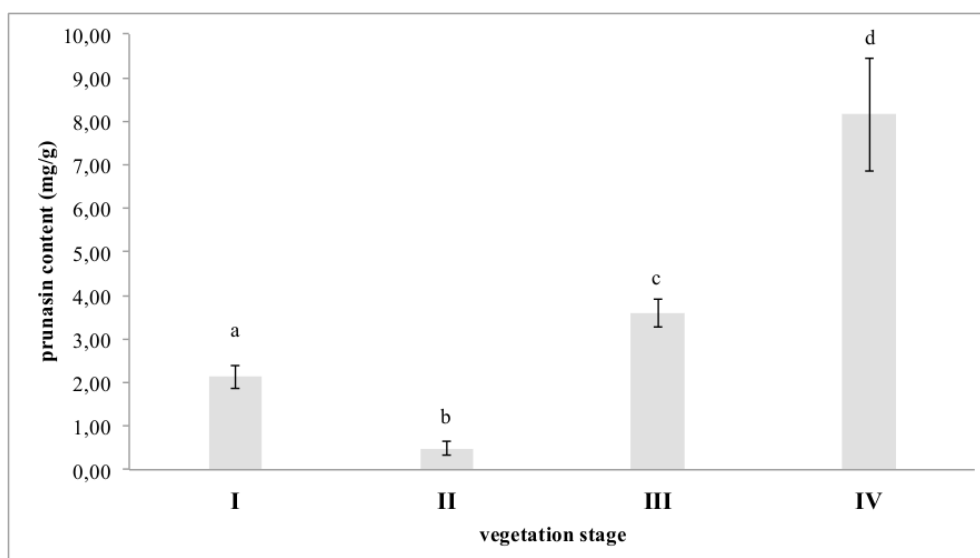
Vis oraz widm MS. Wykryłem 24 związki należące do grupy flawonoidów (pochodne kwercetyny i kemferolu) oraz kwasów fenolowych (głównie pochodne kawoiloglukozy). Szczegółowe dane dotyczące zidentyfikowanych substancji zawarłem w tabeli 3 publikacji H7. Obecność wszystkich zidentyfikowanych związków w młodych pędach parzydła leśnego została potwierdzona po raz pierwszy. Następnie opracowałem i zwalidowałem metodę oznaczania ilościowego 19 spośród wykrytych związków (dane dotyczące zawartości poszczególnych metabolitów wtórnych zawiera tabela 2 a dane dotyczące walidacji tabele S2 i S3 publikacji H7). Ponieważ prunazyna jest związkiem słabo absorbującym promieniowanie UV-Vis oraz ze względu na fakt, że związek ten występował w badanym materiale w małych ilościach jego oznaczanie przeprowadziłem z użyciem metody HPLC-MS monitorując powierzchnię pod pikiem odpowiadającym natężeniu jonów charakterystycznych dla prunazyny w polaryzacji dodatniej. Ponieważ badane próbki pochodziły z roślin znajdujących się na różnym etapie wegetacji postanowiłem przeanalizować ewentualne zmiany w zawartości sumy kwasów fenolowych (Rys. 6), sumy flawonoidów (Rys. 7) oraz prunazyny (Rys. 8) w zależności o stadium rozwoju.



Rysunek 6. Całkowita zawartość kwasów fenolowych w młodych pędach parzydła leśnego w zależności o stadium rozwoju.



Rysunek 7. Całkowita zawartość flawonoidów w młodych pędach parzydła leśnego w zależności o stadium rozwoju.



Rysunek 8. Zawartość prunazyny w młodych pędach parzydła leśnego w zależności o stadium rozwoju.

Uzyskane wyniki wykazały, że nie ma jasnej korelacji pomiędzy całkowitą zawartością kwasów fenolowych a stadium rozwoju młodych pędów (Rys. 6). W przypadku całkowitej zawartości flawonoidów (Rys. 7) wykazałem, że zawartość tej grupy związków wzrasta wraz badanym stadium wegetacji (obserwowane różnice były istotne statystycznie). Z piśmiennictwa wiadomo, że podstawową rolą flawonoidów jest ochrona roślin przed promieniowaniem UV. Wiadomo również, że zawartość tej grupy związków rośnie wraz czasem ekspozycji rośliny promieniowanie słoneczne. Stąd też zaobserwowany przez mnie trend w świetle przeprowadzonych wcześniej badań jest jak najbardziej oczekiwany [56]. Najważniejszym częścią prowadzonych przeze mnie badań dotyczących młodych pędów parzydła leśnego jest określenie zawartości szkodliwego dla zdrowia glikozydu cyjanogennego – prunazyny na różnych etapach wegetacji tej rośliny (Rys. 9). Zgodnie z ludowymi przesłankami młode pędy parzydła nadają się do spożycia do momentu, gdy wytworzą pierwsze zielone liście. Jednakże w piśmiennictwie brak jest naukowego potwierdzenia tej przesłanki. Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że wraz z rozwojem pędów następuje najpierw spadek zawartości prunazyny (II etap wegetacji) a następnie stopniowy wzrost zawartości tego związku (III i IV etap). Rośliny na IV etapie badanym etapie mają już rozwinięte pierwsze zielone liście i zgodnie z ludowymi przesłankami nie nadają się do spożycia. Wykazałem również, że II badany etap rozwoju jest najlepszym momentem do zbioru młodych pędów do celów kulinarnych ze względu na najniższą zawartość oznaczanego związku.

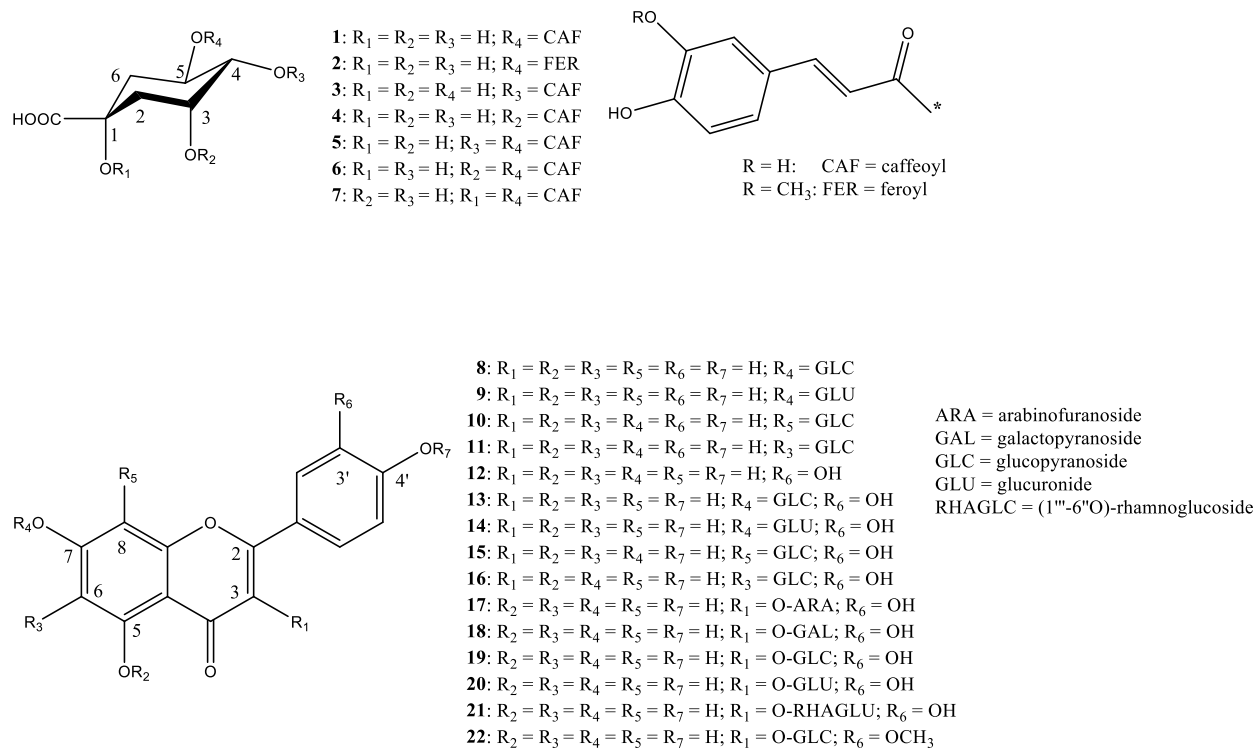
Analiza chromatograficzna wyciągów przygotowanych z roślin z rodzajów wężymord (Scorzonera) oraz kozibród (Tragopogon) pod kątem powiązań chemotaksonomicznych; izolacja głównych składników polifenolowych z części nadziemnych Tragopogon tomassinii oraz ocena potencjalnej aktywności przeciwzapalnej wyizolowanych związków.

Podplemię Scorzonerinae jest częścią rodziny astrowatych (Asteraceae) i zawiera takie rodzaje jak *Epilasia*, *Geropogon*, *Koelpinia*, *Pterachaenia*, *Scorzonera* (wężymord), *Tournruxia* oraz *Tragopogon* (kozibród), co sumarycznie daje ok. 300 gatunków roślin [57]. Na terenie Europy występują gatunki należące do rodzajów *Scorzonera* (ok. 28 gatunków włączając rośliny należące do rodzaju *Podospermum*) oraz *Tragopogon* (ok. 20 gatunków włączając rośliny należące do rodzaju *Geropogon*) [36]. Poprzednie badania wykazały, że gatunki roślin należących do podplemienia Scorzonerinae są bogatym źródłem polifenoli, przede wszystkim kwasów fenolowych i flawonoidów [9, 58, 59]. Jak już wcześniej wspomniałem flawonoidy tradycyjne są grupą związków używaną jako markery chemotaksonomiczne dla wielu grup roślin.

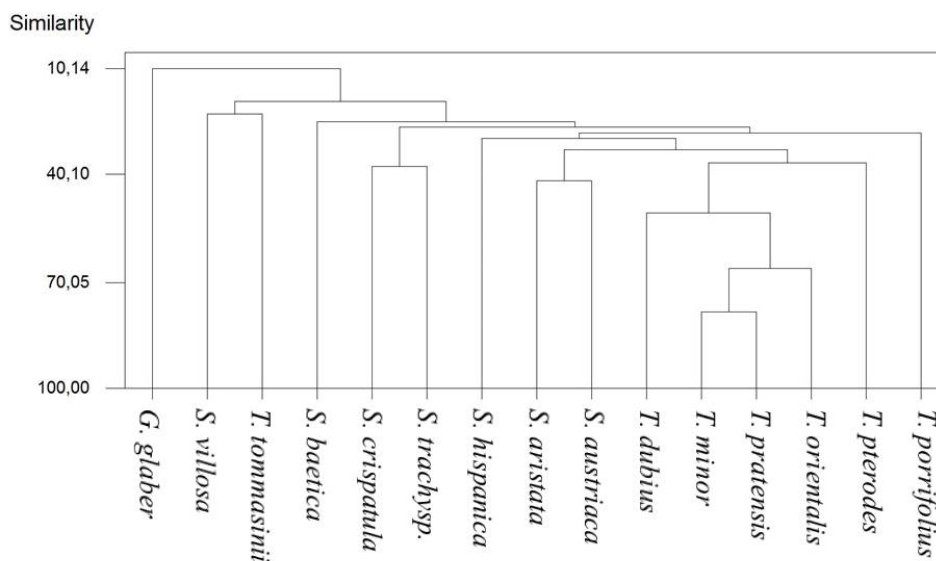
Celem przeprowadzonych przeze mnie badań były poszukiwania powiązań chemotaksonomicznych w obrębie roślin należących do podplemienia Scorzonerinae występujących w stanie naturalnym na terenie Europy.

Do badań zgromadziłem (wspólnie z prof. Christianem Zidornem) próbki siedmiu roślin należących do rodzaju *Scorzonera*, siedmiu roślin należących do rodzaju *Tragopogon* oraz jednej rośliny należącej do rodzaju *Geropogon* (dokładne dane dotyczące poszczególnych roślin zawarłem w sekcji materiały i metody publikacji H4). Z użyciem HPLC-DAD-MS³ opracowałem metodę pozwalającą na rozdział głównych składników analizowanych próbek. Wykryłem i scharakteryzowałem siedmiu kwasów fenolowych oraz 49 flawonoidów (tabela 1 publikacji H4). Analiza danych otrzymanych z detektora DAD, MS, porównanie z dostępnymi wzorcami chemicznymi oraz piśmiennictwem pozwoliły na określenie struktury wszystkich siedmiu wykrytych kwasów fenolowych (1-7) oraz piętnastu flawonoidów (8-22). Struktury zidentyfikowanych polifenoli przedstawia Rys. 9. Na podstawie pola powierzchni pod odpowiednimi pikami ($\lambda=350$ nm) oszacowałem także zawartość wykrytych związków. Ze względu brak oczywistych różnic pomiędzy analizowanymi próbkami roślin oraz na poziom skomplikowania otrzymanych wyników dane zostały poddane obróbce statystycznej z użyciem metody analizy głównych składowych (PCA) oraz diagraficznej metody Czakowskiego (HCA).

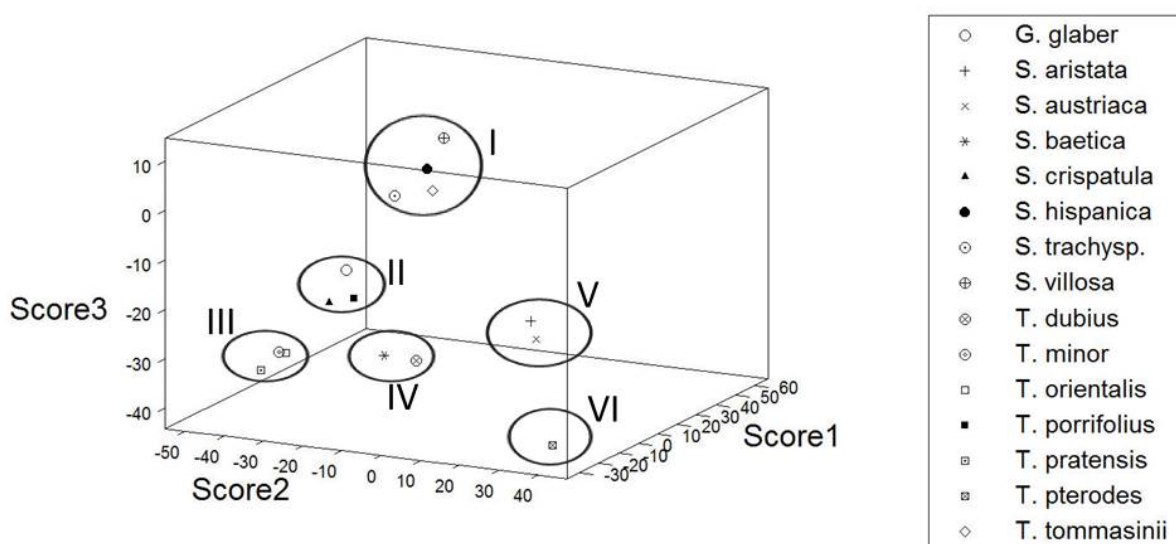
Przeprowadzona analiza otrzymanych wyników metodami chemometrycznymi nie pozwoliła na jednoznaczne zróżnicowanie pod względem składu chemicznego dwóch badanych rodzajów roślin – *Scorzonera* oraz *Tragopogon* (Rys. 10 i 11).



Rysunek 9. Wzory chemiczne zidentyfikowanych związków.



Rysunek 10. Dendrogram otrzymany w wyniku analiza HCA otrzymanych wyników.



Rysunek 11. Wykres 3-D wyników otrzymanych poprzez analizę danych metodą PCA.

Jedyną grupą o podobieństwie powyżej 50% w analizie HCA (Rys. 10) jest grupa zawierająca trzy gatunki roślin należących do rodzaju kozibród (*T. minor*, *T. orientalis* oraz *T. pratensis*). Poczyniona obserwacja znajduje swoje potwierdzenie w piśmiennictwie, gdyż trzy wspomniane taksony są do siebie podobne pod względem cech morfologicznych [60]. Bliskie pokrewieństwo tych trzech gatunków zostało również wykazane w badaniach filogenetycznych [61]. Ponadto niektórzy autorzy zaliczają te rośliny do tego samego gatunku *T. pratensis* wyróżniając trzy podgatunki. Zaobserwowane podobieństwo zostało potwierdzone także przez wyniki analizy PCA (Rys. 11), w której te same trzy gatunki utworzyły zwartą grupę (III). Analiza PCA pozwoliła na wyodrębnienie dodatkowych pięciu grup jednakże nie mają one swoich ewidentnych odpowiedników w analizie HCA. Z tego też względu wyciąganie dodatkowych wniosków dotyczących przeprowadzonych badań było niewskazane, a nawet niemożliwe.

Przeprowadzone przeze mnie analizy HPLC wykazały, że jedną z roślin o najciekawszym i najlepiej rokującym pod względem badań fitochemicznych składzie jest *Tragopogon tommasinii*. Stąd też w dalsze moje badania postanowiłem poświęcić analizie składu i izolacji głównych związków występujących w częściach nadziemnych tej rośliny.

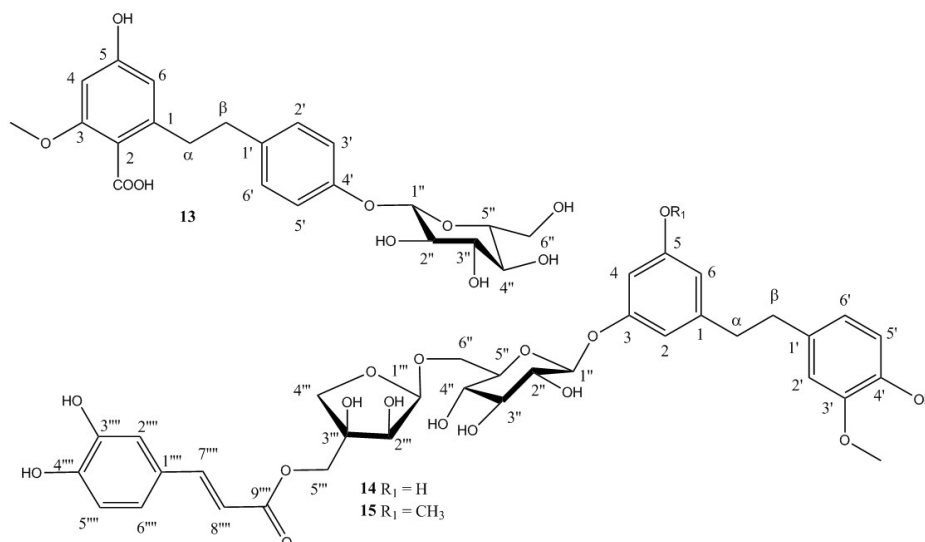
Tragopogon tommasinii Sch. Bip. jest wieloletnią rośliną zielną o wysokości od 40 do 70 cm, posiadającą kwiaty zebrane w duże główki (4-5 cm) występującą jako endemit na terenie dawnej Iryrii tj. od północnych krańców obecnych Włoch aż do północnej części współczesnej Grecji [62]. Roślina ta jest morfologicznie bardzo podobna do kozibrodu łąkowego (*Tragopogon pratensis*), choć może być łatwo od niego odróżniona m. in. po charakterystycznym wełnistym owłosieniu występującym u nasady liści [62]. W

piśmiennictwie brak jest jakichkolwiek doniesień dotyczących składu chemicznego wybranego przeze mnie gatunku kozibrodu. Inne badania dotyczące metabolitów wtórnych występujących w rodzaju *Tragopogon* wykazały, że rośliny do niego należące są źródłem kwasów fenolowych, flawonoidów, triterpenów i steroli [58, 59, 63, 64]. Ostatnie doniesienia wykazały, że niektóre z gatunków należących do omawianego rodzaju zawierają także szereg ciekawych pod względem fitochemicznym związków skalsyfikowanych jako stilbenoidy, ftalidy oraz pochodne dihydroizokumaryny [65-67].

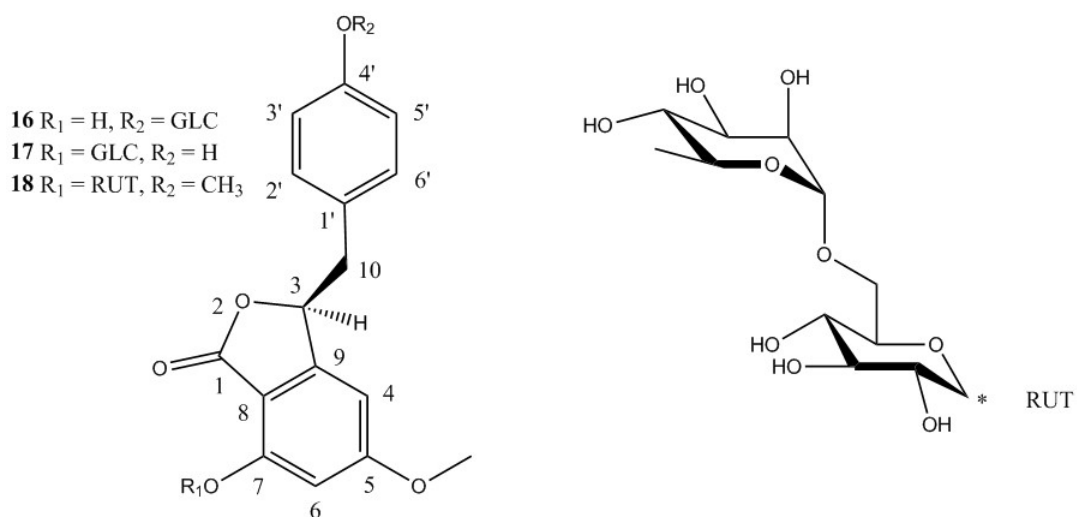
Celem zaplanowanych i przeprowadzonych przeze mnie badań była izolacja i identyfikacja głównych związków występujących w częściach nadziemnych *Tragopogon tommasinii* ze szczególnym uwzględnieniem wspomnianych powyżej grup metabolitów wtórnych.

Materiał do badań został zebrany i zidentyfikowany przez prof. Christiana Zidorna w czerwcu 2009 roku na terenie Słowenii. Z wysuszonych i zmielonych części nadziemnych przygotowałem ekstrakt metanolowy. Surowy wyciąg został przeze mnie rozfrakcjonowany poprzez ekstrakcję rozpuszczalnikami o wzrastającej polarności. W moich badaniach zająłem się pozostałością otrzymaną po wytrząsaniu z użyciem octanu etylu. Izolację związków zawartych w wybranej frakcji przeprowadziłem z użyciem chromatografii kolumnowej poczynawszy od rozdziału na kolumnie wypełnionej żelą krzemionkowym, a skończywszy na doczyszczaniu poszczególnych związków metodą wysokosprawnej preparatywnej chromatografii cieczowej (szczegóły prac izolacyjnych zawarłem w materiałach i metodach publikacji H5). Efektem przeprowadzonych badań było wyizolowanie i zidentyfikowanie głównych 21 związków (1-21) występujących w przygotowanym ekstrakcie. Część z nich (12 substancji) stanowiły proste i wykryte wcześniej w badaniach HPLC (patrz publikacja H4) kwasy fenolowe (pochodne kwasu kawoilochinowego) oraz flawonoidy z grupy flawonów i flawonoli. Wyizolowałem także szereg rzadkich metabolitów wtórnych należących do grupy stilbenoidów (13-15, Rys. 12), ftalidów (16-18, Rys. 13), pochodnych kanabispiradienu (19-20, Rys. 14) oraz pochodnych sperminy (21).

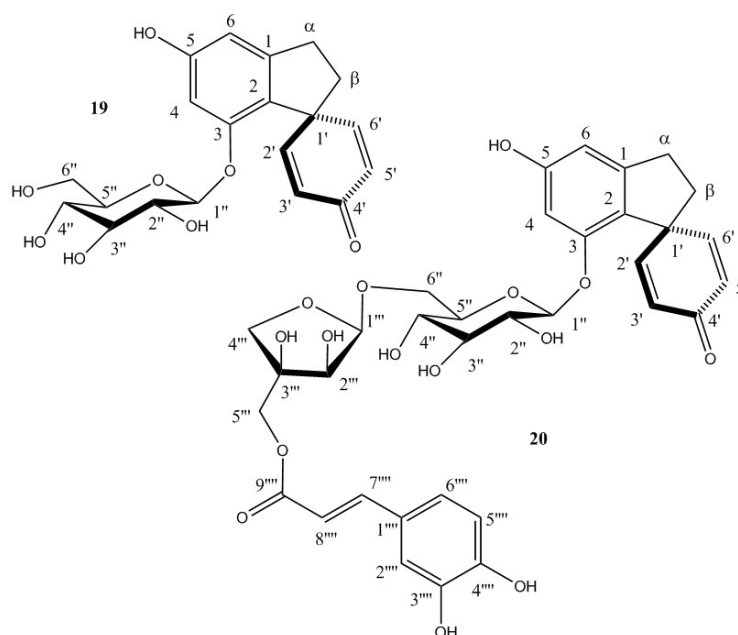
Struktury chemiczne otrzymanych związków zostały ustalone z użyciem technik spektroskopowych i spektrometrycznych takich jak: 1 i 2D NMR, CD oraz HR-MS. Wśród wyizolowanych substancji zidentyfikowałem siedem nowych związków pochodzenia naturalnego (13-15 oraz 17-20). Przeprowadzone badania potwierdziły, że rośliny w rodzaju *Tragopogon* są źródłem ciekawych i rzadkich stilbenoidów, które do chwili obecnej były wykryte w gatunkach roślin należących do podplemienia Scorzonerae.



Rysunek 12. Struktury chemiczne wyizolowanych i zidentyfikowanych stilbenoidów (13-15).



Rysunek 13. Struktury chemiczne wyizolowanych i zidentyfikowanych fthalidów (16-18).



Rysunek 14. Struktury chemiczne wyizolowanych i zidentyfikowanych pochodnych kanabispiradienonu (19-20).

Największym osiągnięciem opisywanych badań jest wyizolowanie i potwierdzenie struktury glikozydów będących pochodnymi kanabipiradienu. Tego typu związki były wykryte w roślinach z rodzaju konopia (*Cannabis*), jednakże nigdy w formie glikozylowanej [68]. Niniejsza praca jest pierwszym dowodem na występowanie pochodnych kanabipiradienu poza rodzajem konopia.

Ze względu na fakt, że wyizolowane stilbenoidy (13-15), ftalidy (16-18) oraz pochodne kanabipiradienu (19-20) są rzadkimi związkami pochodzenia naturalnego oraz biorąc pod uwagę, że w piśmiennictwie stwierdzono, iż związki o podobnej strukturze mogą mieć właściwości przeciwzapalne [69, 70], postanowiłem zbadać wpływ wyizolowanych substancji (13-20) na produkcję prozapalnych czynników przez stymulowane neutrofile ludzkie. Oceniałem wpływ związków w stężeniu 50 μ M na produkcję i uwalnianie interleukiny 8 (IL-8), interleukiny 1 β (IL-1 β), czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF- α) oraz metaloproteinazy macierzy 9 (MMP-9). Wykazałem, że niektóre z badanych związków (szczególnie związki 15, 18 i 20) wykazują interesujący profil działania przeciwzapalnego (otrzymane wyniki prezentują wykresy 8, 9, 10 i 11 publikacji H5). Należy jednak zwrócić uwagę, że przeprowadzone eksperymenty mają charakter badań wstępnych pozwalających jedynie na wytypowanie związków, które w przyszłości mogą zostać użyte w dalszych badaniach biologicznych.

Najważniejsze osiągnięcie prowadzonych przeze mnie prac:

- wyizolowanie i zidentyfikowanie ośmiu nowych związków pochodzenia naturalnego spośród 41 wyizolowanych substancji należących do grupy kwasów fenolowych, flawonoidów, ftalidów, stilbenoidów, pochodnych kanabipiradienu, lignanów oraz monoterpenoidów
- przeprowadzenie badań pod kątem aktywności biologicznej części z wyizolowanych związków, wykazanie potencjalnego działania przeciwnowotworowego monoterpenoidów i lignanu z korzenia wężymordu oraz potencjalnego działania przeciwzapalnego stilbenoidów otrzymanych z części nadziemnych *Tragopogon tomassinii*; wyizolowane związki po przeprowadzeniu dalszych badań mogą stanowić ciekawe struktury wyjściowe do otrzymywania substancji o silniejszej i ukierunkowanej aktywności biologicznej
- opracowanie kompleksowych metod oceny składu jakościowego i ilościowego dwóch substancji roślinnych (*Polygoni avicularis herba* oraz *Agrimoniae herba*) – wskazanie na konieczność ponownego opracowania metod potwierdzania

tożsamości i standaryzacji roślinnych surowców leczniczych z użyciem nowoczesnych metod analitycznych

- poszerzenie wiedzy dotyczącej możliwości zastosowania detektora wyładowań koronowych (CAD) w ilościowej analizie fitochemicznej
- udokumentowanie i omówienie powiązań chemotaksonomicznych w wybranych surowcach roślinnych należących do rodzajów *Agrimonia*, *Scorzonera*, *Tragopogon* oraz *Persicaria* – wskazanie możliwości wykorzystania obecności niektórych związków polifenolowych jako markerów chemotaksonomicznych w badanym materiale

Piśmiennictwo:

- [1] Gratzfeld-Huesgen, A., Schein, A., 2002, The application of HPLC in food analysis, *Chemical Compound*, <http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/aprilmay-2002/the-application-of-hplc-in-food-analysis/>
- [2] Dixon, R.W., Peterson, D.S., 2002, Development and testing of a detection method for liquid chromatography based on aerosol charging, *Analytical Chemistry*, 74, 2930-2937.
- [3] Górecki, T., Lynen, F., Szucs, R., Sandra, P., 2006, Universal response in liquid chromatography using charged aerosol detection, *Analytical Chemistry*, 78, 3186-3192.
- [4] Wolfender, J.L., 2009, HPLC in natural product analysis: The detection issue, *Planta Medica*, 75, 719-734.
- [5] Eom, H.Y., Park, S.Y., Kim, M.K., Suh, J.H., Yeom, H., Min, J.W., Kim, U., Lee, J., Youm, J.R., Han, S.B., 2010, Comparison between evaporative light scattering detection and charged aerosol detection for the analysis of saikosaponins, *Journal of Chromatography A*, 1217, 4347-4354.
- [6] Holzgrabe, U., Nap, C.J., Almeling, S., 2010, Control of impurities in L-aspartic acid and L-alanine by high-performance liquid chromatography coupled with a corona charged aerosol detector, *Journal of Chromatography A*, 1217, 294-301.
- [7] Kakigi, Y., Mochizuki, N., Ichio, T., Hakamatsuka, T., Goda, Y., 2010, Analysis of terpene lactones in a ginkgo leaf extract by high-performance liquid chromatography using charged aerosol detection, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74, 590-594.
- [8] Hegnauer, R., 1986, Phytochemistry and plant taxonomy - an essay on the chemotaxonomy of higher-plants, *Phytochemistry*, 25, 1519-1535.
- [9] Sareedenchai, V., Zidorn, C., 2010, Flavonoids as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 935-957.
- [10] Kawasaki, M., Kanomata, T., Yoshitama, K., 1986, Flavonoids in the leaves of twenty-eight polygonaceous plants, *The Botanical Magazine - Tokyo*, 99, 63-74.
- [11] Zidorn, C., 2008, Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae, *Phytochemistry*, 69, 2270-2296.
- [12] Newman, D.J., Cragg, G.M., 2012, Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010, *Journal of Natural Products*, 75, 311-335.
- [13] Strzelecka, H., Kowalski, J., Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2000.
- [14] van Wyk, B.E., Wink, M., Rośliny lecznicze świata, MedPharm Polska, Warszawa, 2004.

- [15] Hansel, R., Keller, K., Rimpler, H., Greiner, S., Schneider, G., Drogen, Springer-Verlag, Berlin, 1994.
- [16] Wichtl, M., Herbal drugs and phytopharmaceuticals, Medpharm Scientific Publishers, Wurzburg, 2004.
- [17] Rutkowski, L., Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2014.
- [18] Granica, S., Czerwińska, M.E., Żyżyńska-Granica, B., Kiss, A.K., 2013, Antioxidant and anti-inflammatory flavonol glucuronides from *Polygonum aviculare* L, *Fitoterapia*, 91, 180-188.
- [19] Granica, S., Piwowarski, J.P., Popławska, M., Jakubowska, M., Borzym, J., Kiss, A.K., 2013, Novel insight into qualitative standardization of *Polygoni avicularis herba* (Ph. Eur.), *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72, 216-222.
- [20] Granica, S., Krupa, K., Kłębowska, A., Kiss, A.K., 2013, Development and validation of HPLC-DAD-CAD-MS³ method for qualitative and quantitative standardization of polyphenols in *Agrimoniae eupatoria herba* (Ph. Eur), *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 86, 112-122.
- [21] Tsimogiannis, D., Samiotaki, M., Panayotou, G., Oreopoulou, V., 2007, Characterization of flavonoid subgroups and hydroxy substitution by HPLC-MS/MS, *Molecules*, 12, 593-606.
- [22] Bilia, A.R., Palme, E., Catalano, S., Pistelli, L., Morelli, I., 1993, Constituents and biological assay of *Agrimonia eupatoria*, *Fitoterapia*, 64, 549-550.
- [23] Bilia, A.R., Palme, E., Marsili, A., Pistelli, L., Morelli, I., 1993, A flavonol glycoside from *Agrimonia eupatoria*, *Phytochemistry*, 32, 1078-1079.
- [24] Correia, H., González-Paramás, A., Amaral, M.T., Santos-Buelga, C., Batista, M.T., 2006, Polyphenolic profile characterization of *Agrimonia eupatoria* L. by HPLC with different detection devices, *Biomedical Chromatography*, 20, 88-94.
- [25] Kubinova, R., Jankovska, D., Bauerova, V., 2012, Antioxidant and alpha-glucosidase activities and polyphenol content of five species of *Agrimonia* genus, *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 2, 38-41.
- [26] Shabana, M.H., Węglarz, Z., Geszprych, A., Mansour, R.M., El-Ansari, M.A., 2003, Phenolic constituents of agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) herb, *Herba Polonica*, 49, 24-28.

- [27] Tomlinson, C.T.M., Nahar, L., Copland, A., Kumarasamy, Y., Mir-Babayev, N.F., Middleton, M., Reid, R.G., Sarker, S.D., 2003, Flavonol glycosides from the seeds of *Agrimonia eupatoria* (Rosaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 439-441.
- [28] Venskutonis, P.R., Skemaite, M., Sivik, B., 2008, Assessment of radical scavenging capacity of *Agrimonia* extracts isolated by supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids*, 45, 231-237.
- [29] EMEA, 2014, Community herbal monograph on *Agrimonia eupatoria* L. , herba, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Community_herbal_monograph/2014/05/WC500167548.pdf
- [30] ESCOP, European Scientific Cooperative on Phytotherapy Monographs Supplement Thieme, Stuttgart, 2009.
- [31] Eberwein, E., G., V., Arzneipflanzen in der Pythotherapie. Einzelstoffmonographien und Atoffcharakteristiken Undikationsgegliedertes Kompendium von Arzneipflanzen gemass Monographien der Kommission E mit Darstellung von Kombinationsmöglichkeiten, Kooperation Phytoparmaka, Bonn, 1993.
- [32] Clifford, M.N., Johnston, K.L., Knight, S., Kuhnert, N., 2003, Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 2900-2911.
- [33] Bazyłko, A., Piwowarski, J.P., Filipek, A., Bonarewicz, J., Tomczyk, M., 2013, In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Potentilla recta* and its main ellagitannin, agrimoniin, *Journal of Ethnopharmacology*, 149, 222-227.
- [34] Feldman, K.S., Sahasrabudhe, K., Smith, R.S., Scheuchenzuber, W.J., 1999, Immunostimulation by plant polyphenols: A relationship between tumor necrosis factor-alpha production and tannin structure, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 9, 985-990.
- [35] Miyamoto, K., Kishi, N., Murayama, T., Furukawa, T., Koshiura, R., 1988, Induction of cyto-toxicity of peritoneal-exudate cells by agrimoniin, a novel immunomodulatory tannin of *Agrimonia pilosa* Ledeb, *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 27, 59-62.
- [36] Webb, D.A., Flora Europea vol. 1, Cambrige University Press, Cambrige, 1964.
- [37] Galasso, G., Banfi, E., De Mattia, F., Grassi, F., Sgorbatti, S., Labra, M., 2009, Molecular phylogeny of *Polygonum* L. s. l. (Polygonoidae, Polygonaceae), focusing on European taxa: preliminary results and systematic considerations based on *rbcL* plastidial sequence data, *Atti della Società italiana di scienze naturali e del Museo civico di storia naturale di Milano.*, 150, 113-148.

- [38] Smolarz, H.D., 1999, Chromatographical analysis of phenolic acids in some species of *Polygonum* L genus - Part 1 - Qualitative analysis by Two-Dimensional Thin Layer Chromatography (TLC), *Acta Societas Botanicorum Poloniae*, 68, 287-290.
- [39] Smolarz, H.D., 2002, Comparative study on the free flavonoid aglycones in herbs of different species of *Polygonum* L, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 59, 145-148.
- [40] Smolarz, H.D., 2002, Flavonoid glycosides in nine *Polygonum* L. taxons, *Acta Societas Botanicorum Poloniae*, 71, 29-33.
- [41] Peng, Z.F., Strack, D., Baumert, A., Subramaniam, R., Goh, N.K., Chia, T.F., Tan, S.N., Chia, L.S., 2003, Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L., *Phytochemistry*, 62, 219-228.
- [42] Yagi, A., Uemura, T., Okamura, N., Haraguchi, H., Imoto, T., Hashimoto, K., 1994, Antioxidative sulfated flavonoids in leaves of *Polygonum hydropiper*, *Phytochemistry*, 35, 885-887.
- [43] Yang, X.A., Wang, B.C., Zhang, X., Yang, S.P., Li, W., Tang, Q.A., Singh, G.K., 2011, Simultaneous determination of nine flavonoids in *Polygonum hydropiper* L. samples using nanomagnetic powder three-phase hollow fibre-based liquid-phase microextraction combined with ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54, 311-316.
- [44] Granica, S., 2015, Quantitative and qualitative investigations of pharmacopoeial plant material *Polygoni avicularis herba* by UHPLC-CAD and UHPLC-ESI-MS methods, *Phytochemical Analysis*, 26, 374-382.
- [45] Bennini, B., Chulia, A.J., Kaouadji, M., Thomasson, F., 1992, Phytochemistry of the Ericaceae. Flavonoid glycosides from *Erica cinerea*, *Phytochemistry*, 31, 2483-2486.
- [46] Blaschek, W., Ebel, S., Hackenthal, E., Holzgrabe, U., Keller, K., Reichling, J., Schulz, V., Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, Stuttgart, 2007.
- [47] Bryanskii, O.V., Tolstikhina, V.V., Zinchenko, S.V., Semenov, A.A., 1992, A sesquiterpene glucoside from cultivated cells of *Scorzonera hispanica*, *Chemistry of Natural Compounds*, 28, 556-560.
- [48] Zidorn, C., Ellmerer-Müller, E.P., Stuppner, H., 2000, Sesquiterpenoids from *Scorzonera hispanica* L., *Pharmazie*, 55, 550-551.
- [49] Tutin, T.G., *Aruncus* L., in: Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.) *Flora Europea*, University Press, Cambridge, 1976.

- [50] Fontanari, I., 2012, Una delizia primaverile: l'asparago di monte (o Barba di carpa), *Terra Trentina*, 2, 44-47.
- [51] Machatschek, M., 1997, Der Geissbaut (*Aruncus dioicus*) als Wildspargel., *Folge*, 10/1997, 265-269.
- [52] Bohm, B.A., Bhat, U.G., 1985, Flavonoids of *Astilbe* and *Rodgersia* compared to *Aruncus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 13, 437-440.
- [53] Jeong, S.Y., Jun, D.Y., Kim, Y.H., Min, B.S., Min, B.K., Woo, M.H., 2011, Monoterpenoids from the aerial parts of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* and their antioxidant and cytotoxic activities, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 21, 3252-3256.
- [54] Oszmiański, J., Wojdyło, A., Lamer-Zarawska, E., Swiader, K., 2007, Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots, *Food Chemistry*, 100, 579-583.
- [55] Fikenscher, L.H., Hegnauer, R., Ruijgrok, H.W.L., 1981, Die Verbreitung der Blausäure bei den Cormophyten, *Planta Medica*, 41, 313-327.
- [56] Gould, S., Lister, C., Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications, Taylor & Francis, London, 2006.
- [57] Bremer, K., Asteraceae. Cladistics and classification., Timber Press, Oregon, 1994.
- [58] Smolarz, H.D., Krzaczek, T., 1988, Phytochemical studies of the herb, *Tragopogon orientalis* L (Asteraceae). Components of a methanol extract, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 57, 93-105.
- [59] Kroschewsky, J.R., Mabry, T.J., Markham, K.R., Alston, R.E., 1969, Flavonoids from genus *Tragopogon* (Compositae), *Phytochemistry*, 8, 1495-1498.
- [60] Jager, E.J., Werner, K., Exkursionsflora von Deutschland, Elsevier/Spektrum, Heidelberg, 2005.
- [61] Mavrodiev, E.V., Edwards, C.E., Albach, D.C., Gitzendanner, M.A., Soltis, P.S., Soltis, D.E., 2004, Phylogenetic relationships in subtribe Scorzonnerinae (Asteraceae : Cichorioideae : Cichorieae) based on ITS sequence data, *Taxon*, 53, 699-712.
- [62] Pignatti, S., Flora d'Italia, Edagricole, Bologna, Italy, 1982.
- [63] Krzaczek, T., Smolarz, H.D., 1988, Phytochemical studies of the herb, *Tragopogon orientalis* L (Asteraceae) .The components of a petroleum ether extract, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 57, 85-92.
- [64] Miyase, T., Kohsaka, H., Ueno, A., 1992, Tragopogonosides-a-I, oleanane saponins from *Tragopogon pratensis*, *Phytochemistry*, 31, 2087-2091.

- [65] Zidorn, C., Grass, S., Ellmerer, E.P., Ongania, K.H., Stuppner, H., 2006, Stilbenoids from *Tragopogon orientalis*, *Phytochemistry*, 67, 2182-2188.
- [66] Zidorn, C., Lohwasser, U., Pschorr, S., Salvenmoser, D., Ongania, K.H., Ellmerer, E.P., Borner, A., Stuppner, H., 2005, Bibenzyls and dihydroisocoumarins from white salsify (*Tragopogon porrifolius* subsp *porrifolius*), *Phytochemistry*, 66, 1691-1697.
- [67] Zidorn, C., Petersen, B.O., Sareedenchai, V., Ellmerer, E.P., Duus, J.O., 2010, Tragoponol, a dimeric dihydroisocoumarin from *Tragopogon porrifolius* L., *Tetrahedron Letters*, 51, 1390-1393.
- [68] Pagani, A., Scala, F., Chianese, G., Grassi, G., Appendino, G., Taglialatela-Scafati, O., 2011, Cannabioxepane, a novel tetracyclic cannabinoid from hemp, *Cannabis sativa* L., *Tetrahedron*, 67, 3369-3373.
- [69] Jancinova, V., Pazourekova, S., Lucova, M., Perecko, T., Mihalova, D., Bauerova, K., Nosal, R., Drabikova, K., 2015, Selective inhibition of extracellular oxidants liberated from human neutrophils-A new mechanism potentially involved in the anti-inflammatory activity of hydroxychloroquine, *International Immunopharmacology*, 28, 175-181.
- [70] Jancinova, V., Perecko, T., Nosal, R., Kost'alo, D., Bauerova, K., Drabikova, K., 2009, Decreased activity of neutrophils in the presence of diferuloylmethane (curcumin) involves protein kinase C inhibition, *European Journal of Pharmacology*, 612, 161-166.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

a) działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora

Swoją działalność naukową rozpocząłem w studenckim kole naukowym przy Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii. Prowadziłem badania dotyczące składu chemicznego wyciągu wodnego przygotowanego z odtłuszczonych nasion wiesiołka dziwnego (*Oenothera paradoxa* Hudziok), które zaowocowały pracą magisterską. Część uzyskanych wyników została opisana w publikacji **O24**. W trakcie prac w kole naukowym zajmowałem się również izolacją makrocyklicznego elagotanoidu (oenoteiny B), której aktywność biologiczna była przedmiotem dalszych prac prowadzonych w macierzystej jednostce i została opisana w pracy **O23**. Następnie w związku z wykonywaną na drugim kierunku studiów pracą dyplomową zajmowałem się izolacją furanokumaryn, głównie imperatoryny z nasion arcydzięgla litwora (*Angelica archangelica* L.). Część z uzyskanych wyników była podstawą publikacji **O25**. Wyizolowana imperatoryna oraz ksantotoksyna posłużyły jako substraty w syntezie chemicznej mającej na celu otrzymanie potencjalnych inhibitorów acetylocholinoesterazy i butyrylocholinoesterazy. Otrzymane związki oraz ich badania biologiczne były podstawą mojej pracy magisterskiej na Wydziale Chemii UW. Wyniki badań znalazły odzwierciedlenie w postaci artykułu **O14** oraz były prezentowane na konferencji zagranicznej w postaci plakatu **K30**.

Moje dalsze badania naukowe były związane z wykonywaną w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii pracą doktorską. Początkowo zajmowałem się izolacją związków polifenolowych z części nadziemnych wiesiołka Hoelschera (*Oenothera hoelscheri* Renner ex. Rostański) oraz czartawy pospolitej (*Circaea lutetiana* L.). Wyizolowałem i zidentyfikowałem 32 związki polifenolowe będące głównymi składnikami badanych wyciągów. Większość z otrzymanych związków została wyizolowana po raz pierwszy z badanego materiału. Wskazałem na możliwość wykorzystania niektórych z wykrytych substancji jako markerów chemotaksonomicznych dla obu badanych rodzajów. Wyniki tych badań były przedmiotem publikacji **O13** oraz **O21**, a także były prezentowane w postaci plakatu na konferencji międzynarodowej **K37**.

W kolejnym etapie pracy doktorskiej przygotowałem i scharakteryzowałem metodami chromatograficznymi wyciągi z ziela wiesiołka dwuletniego (*Oenothera biennis* L.) i dziwnego oraz określiłem ich właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne. Potwierdziłem, że oba ekstrakty mają zdolność do wymiatania reaktywnych form tlenu oraz syntetycznego rodnika DPPH w wybranych modelach *in vitro*. Oba wyciągi wykazały

również właściwości przeciwzapalne poprzez hamowanie aktywności dwóch enzymów prozapalnych – hialuronidazy i lipooksygenazy. Wskazałem na potencjalną możliwość wykorzystania odpadów po produkcji nasion wiesiołka, jakimi są części nadziemne obu roślin jako materiału do otrzymywania wyciągów o udowodnionej aktywności biologicznej, mogących znaleźć zastosowanie w lecznictwie lub jako dodatki do produkcji kosmetyków. Otrzymane wyniki zostały opisane w pracy naukowej **O11** oraz były prezentowane na konferencjach zagranicznych **K31** oraz **K33**. Kolejnym etapem prowadzonych badań było zbadanie właściwości biologicznych wyciągu z ziela czartawy pospolitej pod kątem uzasadnienia jego tradycyjnego stosowania jako środka ściągającego i przeciwzapalnego. Potwierdziłem, że wyciąg z czartawy pospolitej posiada wysoki potencjał przeciwutleniający oraz własności przeciwzapalne. Efekty prowadzonych badań zostały opublikowane w pracy oryginalnej **O16**. Otrzymane wyniki są pierwszym doniesieniem dotyczącym własności biologicznych wyciągów z części nadziemnych wiesiołka oraz czartawy. W trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej opracowałem również pierwszą zwalidowaną metodę oznaczania ilościowego oenoteiny B z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-Vis. Udowodniłem, że opracowana metoda z powodzeniem może znaleźć zastosowanie w standaryzacji i kontroli jakości surowców roślinnych należących do rodziny wiesiołkowatych (Oenotheraceae), które są bogatym źródłem tego związku. Opracowana metoda i jej zastosowanie zostały opublikowane w artykule **O20**. Ostatnim etapem prac związanych z rozprawą doktorską było przygotowanie przeze mnie obszernego przeglądu piśmiennictwa dotyczącego składu oraz udokumentowanych działań surowców roślinnych należących do rodzaju wierzbówka/wierzbownica (*Epilobium*). W przygotowanej pracy poglądowej podsumowałem również dane dotyczące aktywności biologicznych oenoteiny B jako związku, który jest wskazywany jako odpowiedzialny za obserwowaną aktywność biologiczną wyciągów przygotowywanych z wierzbówki/wierzbownicy. Opracowany materiał został opublikowany w postaci pracy przeglądowej **R3**.

W trakcie wykonywania pracy doktorskiej zająłem się również syntezą urolityn, będących metabolitami elagotanoidów występujących w roślinach leczniczych oraz żywności. Otrzymane związki posłużyły do badań biologicznych prowadzonych w macierzystej jednostce. Otrzymane wyniki zostały ujęte w trzech publikacjach (**O8**, **O18** oraz **O22**) oraz były prezentowane na licznych konferencjach międzynarodowych (**K6**, **K10**, **K13**, **K16**, **K18**, **K22**, **K24**, **K25**, **K27**, **K29** oraz **K35**).

Brałem także udział w innych badaniach prowadzonych w macierzystej jednostce. Brałem udział w określeniu aktywności antyoksydacyjnej wyciągu wodnego z liści ligustra

pospolitego (*Ligustrum vulgare* L.). Efektem tych badań jest praca naukowa **O10** oraz doniesienie zjazdowe **K32**. Z użyciem HPLC-DAD-MS charakteryzowałem również skład chemiczny części nadziemnych nasturcji większej (*Tropaeolum majus* L.). Wyniki badań zostały opublikowane w pracy **O9** oraz były prezentowane na konferencji międzynarodowej **K34**. Brałem również udział w pracach nad izolacją związków garbnikowych z korzeni kuklika pospolitego (*Geum urbanum* L.). Uzyskane rezultaty zostały zawarte w pracy oryginalnej **O7** oraz doniesieniu zjazdowym **K11**.

Kolejnym aspektem moich badań prowadzonych w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii WUM było opracowanie i zwalidowanie pierwszej metody wykorzystującej UHPLC-CAD przeznaczonej do oznaczania elagotanoidów w ziele krwawnicy (*Lythri hebra*). W swoich badaniach zająłem się problemem możliwości wykorzystania i ograniczeniami detektora wyładowań koronowych (CAD) w analizie ilościowej elagotanoidów. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w pracy **O4** oraz były przedmiotem prezentacji na konferencjach zagranicznych **K11** oraz **K15**.

Przed uzyskaniem stopnia doktora prowadziłem również badania we współpracy z innymi jednostkami naukowymi. We współpracy z dr hab. Michałem Tomczykiem (Zakład Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku) określiłem skład chemiczny wyciągów przygotowanych z części nadziemnych *Drymocallis rupestris*. Uzyskane wyniki zostały ujęte w publikacji **O19**.

Ostatnią częścią badań prowadzonych przed uzyskaniem stopnia doktora były prace związane z badaniem składu chemicznego części nadziemnych rdestu ptasiego (*Polygonum aviculare* L.) oraz rzepiku pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.). Wyniki prowadzonych przeze mnie badań nie były związane tematycznie z przygotowywaną rozprawą doktorską stanowiąc przygotowanie oraz fundament przedstawianego w niniejszym autoreferacie osiągnięcia naukowego będącego podstawą postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych, jednakże ze względów formalnych (prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora) nie zostały włączone do opisywanego osiągnięcia.

Z użyciem HPLC-DAD-MS opracowałem metodę analizy jakościowej wyciągów przygotowywanych z ziela rdestu ptasiego. Wykazałem, że badany materiał roślinny poza dotychczas opisywanymi w piśmiennictwie związkami zawiera również wiele polifenoli nie stwierdzonych wcześniej w tym surowcu. Wykryłem 24 związki flawonoidowe, z czego 12 składników zostało w pełni zidentyfikowanych, a kolejne 11 udało się częściowo scharakteryzować. Nowością w omawianej pracy jest fakt stwierdzenia obecności

glukuronidów flawonolowych pochodnych mirycetyny, kwercetyny, kemferolu, izoramnetyny oraz kemferydu jako dominujących składników badanego ekstraktu. Do chwili przeprowadzenia opisywanych badań w piśmiennictwie twierdzono, że głównymi związkami występującymi w wyciągach z rdestu ptasiego są proste glikozydy kwercetyny i kemferolu, takie jak awikularyna, astragalina czy izokwercetryna. Otrzymane wyniki wskazały na konieczność podjęcia prac nad ponowną analizą fitochemiczną dobrze znanych i od dekad stosowanych surowców farmakognostycznych z użyciem nowoczesnych technik analitycznych. Rezultaty badań zostały opublikowane przeze mnie w pracy **O17** oraz były prezentowane na konferencjach międzynarodowych **K15** i **K21**.

Kontynuacją badań nad składem chemicznym ziela rdestu ptasiego było zajęcie się przeze mnie izolacją i określeniem struktury związków polifenolowych wykrytych metodą HPLC-DAD-MS w badanym materiale. Efektem prowadzonych prac fitochemicznych było wyizolowanie 11 związków będących glukuronowanymi pochodnymi flawonoli. Część z otrzymanych substancji została scharakteryzowana jako acetylowane glukuronidy flawonolowe, które są rzadko występującymi metabolitami wtórnymi. Trzy z otrzymanych flawonoidów (dwie acetylowane pochodne glukuronidu kemferolu oraz acetyloglukuronid izoramnetyny) zostały wyizolowane i scharakteryzowane jako nowe związki pochodzenia naturalnego. Ze względu na fakt, że wyizolowane polifenole są dominującymi składnikami w badanym materiale podjąłem próbę oceny ich potencjalnych właściwości przeciwzapalnych z użyciem modelu wybuchu tlenowego stymulowanych neutrofili ludzkich wyizolowanych z krwi obwodowej. Stwierdziłem, że wszystkie badane związki w stężeniach 1 i 10 μM mają zdolność do hamowania produkcji reaktywnych form tlenu przez stymulowane neutrofile. Udowodniłem, że glukuronid kwercetyny oraz jego dwie acetylowane pochodne wykazują najsilniejszy efekt biologiczny w zastosowanym modelu badań. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w pracy **O12** oraz były prezentowane w formie posteru na konferencji zagranicznej **K26**.

W dalszych badaniach zająłem się analizą fitochemiczną innego dobrze znanego surowca farmakognostycznego – ziela rzepiku pospolitego (*Agrimoniae eupatoriae herba*). Skupiłem się na kompleksowej ocenie składu jakościowego i ilościowego tej substancji roślinnej wykorzystując metodę HPLC-DAD-CAD-MS³. W trakcie prowadzonych badań wykryłem 24 związki polifenolowe należące do grupy kwasów fenolowych, pochodnych flawan-3-olu, elagotanoidów oraz flawonoidów. Stosując metodę spektrometrii mas zidentyfikowałem całkowicie bądź częściowo wszystkie wykryte składniki analizowanych wyciągów. Obecność ośmiu związków została stwierdzona przeze mnie w ziele rzepiku po raz pierwszy.

Opracowałem i zwalidowałem pierwszą metodę analityczną wykorzystującą detekcję spektrofotometryczną oraz detektor wyładowań koronowych przeznaczoną do oznaczania ilościowego 14 polifenoli występujących w badanym materiale w najwyższym stężeniu. Porównując wyniki uzyskane w trakcie analizy ilościowej pochodzące z dwóch różnych detektorów przedyskutowałem zaobserwowane ograniczenia i problemy dotyczące możliwości wykorzystania detektora wyładowań koronowych jako detektora o uniwersalnej odpowiedzi w analizie fitochemicznej. Otrzymane wyniki badań opublikowałem w pracy oryginalnej **O15** oraz w postaci doniesień zjazdowych na konferencjach międzynarodowych **K11**, **K15** oraz **K28**.

b) działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Moje dalsze prace naukowe były przede wszystkim związane z analizą fitochemiczną z wykorzystaniem metody HPLC-DAD-MS. Zajmowałem się także badaniem aktywności biologicznej związków pochodzenia naturalnego z użyciem modeli stosowanych w macierzystej jednostce.

Brałem udział w analizie jakościowej wyciągów przygotowanych z *Gaultheria procumbens* L. oraz *Brassica oleracea* L. we współpracy z dr Piotrem Michelem oraz prof. UMŁ Moniką Olszewską z Zakładu Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Część otrzymanych wyników zostało opublikowanych w pracy **O5**.

We współpracy z dr hab. Michałem Tomczykiem z Zakładu Farmakognozji UMB zajmowałem się analizą jakościową wyciągów przygotowanych z *Rubus caesius* L. oraz składem wyciągów z *Potentilla thuringiaca* Bernh.. Wykonane przeze mnie analizy HPLC-DAD-MS do chwili obecnej zostały opublikowane w formie doniesień zjazdowych **K7** oraz **K12**.

W ramach współpracy z prof. Christianem Zidornem z Uniwersytetu w Innsbrucku/Uniwersytetu w Kilonii zajmowałem się również analizą składu chemicznego wyciągów przygotowywanych z traw morskich (*Posidonia oceanica* L., *Zostera marina* L., *Halophila stipulacea* L. oraz *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch.).

Wraz z dr Katarzyną Szewczyk prowadziłem badania dotyczące analizy chromatograficznej wyciągów przygotowanych z roślin należących do rodzajów *Impatiens*, *Laserpitium* oraz *Pyrola*. Część z otrzymanych wyników została przedstawiona na konferencji międzynarodowej **K2**.

W związku z kierowanym przeze mnie grantem NCN (**P3**) zajmowałem się wpływem elagotanoidów izolowanych z krajowych surowców roślinnych na funkcje prozapalne

neutrofili ludzkich w kontekście prewencji i leczenia chorób jamy ustnej oraz przyzębia. Poza izolowanymi związkami badałem również wyciągi przygotowane z korzenia i kłącza kuklika pospolitego, które zgodnie z piśmiennictwem są tradycyjnie stosowane w schorzeniach jamy ustnej. Wykazałem, że wyciągi roślinne bogate w garbniki, a także izolowane z nich elagotanoidy mają zdolność do modulowania funkcji prozapalnych neutrofili ludzkich. Ponieważ neutrofile odgrywają kluczową rolę w przebiegu stanu zapalnego w obrębie jamy ustnej otrzymane wyniki potwierdzają zasadność stosowania produktów zawierających elagotanoidy w zapobieganiu i leczeniu tego typu schorzeń. Otrzymane rezultaty zostały opisane w pracach oryginalnych **O1**.

Zsyntetyzowane przeze mnie metabolity elagotanoidów (urolityn) zostały użyte do badań biologicznych na linii komórkowej mysich makrofagów RAW 264.7. Otrzymane wyniki zostały opisane w pracy **O2** oraz były przedmiotem doniesienia zjazdowego **K6**.

Brałem również udział w przygotowywaniu dwóch obszernych prac poglądowych dotyczących składu chemicznego, tradycyjnych zastosowań oraz działania biologicznego ziela krwawnicy pospolitej (wraz z dr Jakubem Piwowarskim) oraz roślin z rodzaju *Skimmia* (wraz z prof. Christianem Zidornem oraz prof. Francesco Epifano z Uniwersytetu “G. D’Annunzio” Chieti-Pescara). Prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach zagranicznych **R1** oraz **R2**.

W ostatnim czasie moja uwaga skupiła się na izolacji i badaniu aktywności przeciwzapalnej polifenoli występujących w częściach nadziemnych rdestu wężownika [*Persicaria bistorta* (L.) Samp.]. Zajmuję się również izolacją i identyfikacją głównych składników seskwiterpenowych oraz polifenolowych występujących w częściach nadziemnych sadzka konopiastego (*Eupatorium cannabinum* L.). W związku z otrzymanym grantem w ramach konkursu Sonata NCN rozpocząłem badania dotyczące składu, aktywności przeciwzapalnej i przeciwbakteryjnej kwiatów lipy pozyskiwanych z różnych farmakopealnych gatunków tej rośliny.

6. Pozostałe publikacje oryginalne

- O1.** Granica, S., Piwowarski, J. P., Kiss, A. K., Ellagitannins modulate the inflammatory response of human neutrophils *ex vivo*. *Phytomedicine*, 2015, 22, 1215-1222.
- O2.** Piwowarski, J. P., Kiss, A. K., Granica, S., Moeslinger, T., Urolithins, gut microbiota-derived metabolites of ellagitannins, inhibit LPS-induced inflammation in RAW 264.7 murine macrophages. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, 59, 2168-2177.

- O3.** Graber, T., Kluge, H., Granica, S., Horn, G., Brandsch, C., Stangl, G. I., Studies on the health impact of *Agrimonia procera* in piglets. *BMC Veterinary Research*, 2014, 10, 210.
- O4.** Granica, S.*, Piwowarski, J. P., Kiss, A. K., Determination of C-glucosidic ellagitannins in *Lythri salicariae herba* by ultra-high performance liquid chromatography coupled with charged aerosol detector: method development and validation. *Phytochemical Analysis*, 2014, 25, 201-206.
- O5.** Michel, P., Dobrowolska, A., Kicel, A., Owczarek, A., Bazylko, A., Granica, S., Piwowarski, J. P., Olszewska, M. A., Polyphenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory activity of eastern teaberry (*Gaultheria procumbens* L.) leaf extracts. *Molecules*, 2014, 19, 20498-20520.
- O6.** Piwowarski, J. P., Granica, S., Kiss, A. K., Influence of gut microbiota-derived ellagitannins' metabolites urolithins on pro-inflammatory activities of human neutrophils. *Planta Medica*, 2014, 80, 887-895.
- O7.** Piwowarski, J. P., Granica, S.*, Kosiński, M., Kiss, A. K., Secondary metabolites from roots of *Geum urbanum* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2014, 53, 46-50.
- O8.** Piwowarski, J. P., Granica, S., Zwierzynska, M., Stefanska, J., Schopohl, P., Melzig, M. F., Kiss, A. K., Role of human gut microbiota metabolism in the anti-inflammatory effect of traditionally used ellagitannin-rich plant materials. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 155, 801-809.
- O9.** Bazylko, A., Granica, S., Filipek, A., Piwowarski, J., Stefańska, J., Osńska, E., Kiss, A. K., Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. *Industrial Crops and Products*, 2013, 50, 88-94.
- O10.** Czerwińska, M. E., Granica, S., Kiss, A. K., Effects of an aqueous extract from leaves of *Ligustrum vulgare* on mediators of inflammation in a human neutrophils model. *Planta Medica*, 2013, 79, 924-932.
- O11.** Granica, S.*, Czerwińska, M. E., Piwowarski, J. P., Ziaja, M., Kiss, A. K., Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained after seeds cultivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61, 801-810.
- O12.** Granica, S.*, Czerwinska, M. E., Żyżyńska-Granica, B., Kiss, A. K., Antioxidant and anti-inflammatory flavonol glucuronides from *Polygonum aviculare* L. *Fitoterapia*, 2013, 91, 180-188.
- O13.** Granica, S.*, Kiss, A. K., Secondary metabolites from aerial parts of *Circaea lutetiana* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 46, 22-25.
- O14.** Granica, S., Kiss, A. K., Jarończyk, M., Maurin, J. K., Mazurek, A. P., Czarnocki, Z., Synthesis of imperatorin analogs and their evaluation as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 2013, 346, 1-8.
- O15.** Granica, S.*, Krupa, K., Kłębowska, A., Kiss, A. K., Development and validation of HPLC-DAD-CAD-MS³ method for qualitative and quantitative standardization of polyphenols in *Agrimoniae eupatoriae herba* (Ph. Eur). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, 86, 112-122.

- O16.** Granica, S.*, Piwowski, J., Kiss, A. K., Polyphenol composition of extract from aerial parts of *Circaea lutetiana* L. and its antioxidant and anti-inflammatory activity in vitro. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 2013, 55, 1-8.
- O17.** Granica, S., Piwowski, J. P., Popławska, M., Jakubowska, M., Borzym, J., Kiss, A. K., Novel insight into qualitative standardization of *Polygoni avicularis herba* (Ph. Eur.). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, 72, 216-222.
- O18.** Stolarczyk, M., Piwowski, J. P., Granica, S., Stefańska, J., Naruszewicz, M., Kiss, A. K., Extracts from *Epilobium* sp. herbs, their components and gut microbiota metabolites of Epilobium ellagitannins, urolithins, inhibit hormone-dependent prostate cancer cells-(LNCaP) proliferation and PSA secretion. *Phytotherapy Research*, 2013, 27, 1842-1848.
- O19.** Tomczyk, M., Pleszczyńska, M., Wiater, A., Granica, S., In vitro anticariogenic effects of *Drymocallis rupestris* extracts and their quality evaluation by HPLC-DAD-MS³ analysis. *Molecules*, 2013, 18, 9117-9131.
- O20.** Granica, S.*, Bazyłko, A., Kiss, A. K., Determination of macrocyclic ellagitannin oenothetin B in plant materials by HPLC-DAD-MS: Method development and validation. *Phytochemical Analysis*, 2012, 23, 582-587.
- O21.** Granica, S.*, Kiss, A. K., Secondary metabolites from aerial parts of *Oenothera hoelscheri* Renner ex Rostański. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, 44, 44-47.
- O22.** Kiss, A. K., Granica, S., Stolarczyk, M., Melzig, M. F., Epigenetic modulation of mechanisms involved in inflammation: influence of selected polyphenolic substances on histone acetylation state. *Food Chemistry*, 2012, 131, 1015-1020.
- O23.** Kiss, A. K., Bazyłko, A., Filipek, A., Granica, S., Jaszewska, E., Kiarszys, U., Kośmider, A., Piwowski, J., Oenothetin B's contribution to the anti-inflammatory and antioxidant activity of *Epilobium* sp. *Phytomedicine*, 2011, 18, 557-560.
- O24.** Kiss, A. K., Derwińska, M., Granica, S., Quantitative analysis of biologically active polyphenols in evening primrose (*Oenothera paradoxa*) seeds aqueous extracts. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2011, 61, 109-113.
- O25.** Wszelaki, N., Paradowska, K., Jamróz, M. K., Granica, S., Kiss, A. K., Bioactivity-guided fractionation for the butyrylcholinesterase inhibitory activity of furanocoumarins from *Angelica archangelica* L. roots and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59, 9186-9193.

7. Pozostałe prace przeglądowe

- R1.** Piwowski, J. P., Granica, S., Kiss, A. K., *Lythrum salicaria* L. - Underestimated medicinal plant from European traditional medicine. A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 170, 226-250.
- R2.** Epifano, F., Fiorito, S., Genovese, S., Granica, S., Vitalini, S., Zidorn, C., Phytochemistry of the genus *Skimmia* (Rutaceae). *Phytochemistry*, 2015, 115, 27-43.
- R3.** Granica, S., Piwowski, J. P., Czerwinska, M. E., Kiss, A. K., Phytochemistry, pharmacology and traditional uses of different *Epilobium* species (Onagraceae): a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 156, 316-346.

- R4.** Czerwińska, M. E., Granica, S., Kiss, A. K., Penta-*O*-galoilo- β -glukoza - nie tylko antyoksydant. Potencjalne działanie przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i przeciwcukrzycowe. *Czynniki Ryzyka*, 2009, 9/2009, 57-64.

8. Udział w międzynarodowych lub krajowych konferencjach naukowych

- K1.** Granica, S. Variability of polyphenols in the medicinal plant material – *Polygoni avicularis herba* (Eur. Ph.) by chromatographic methods. 4th International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 20.09.2015-23.09.2015. Lublin, Poland
- K2.** Szewczyk, K.; Zidorn, C.; Bogucka-Kocka, A.; Granica, S. Polyphenolic profile of *Impatiens* L. Aerial parts extracts. 4th International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 20.09.2015-23.09.2015. Lublin, Poland
- K3.** Granica, S.; Kłębowska, A.; Piwowarski, J.P.; Dudek, M.; Kiss, A.K. Effects of selected tannins on neutrophils functions. Significance in periodontal diseases. 4th International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 20.09.2015-23.09.2015. Lublin, Poland
- K4.** Granica, S.; Fusani, P.; Zidorn, C.; Piwowarski, J.P.; Kiss, A.K. Isolation and identification of monoterpenoids from *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald. 4th International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 20.09.2015-23.09.2015. Lublin, Poland
- K5.** Granica, S. Phytochemical investigations of *Polygoni avicularis herba*. Quantification of phenolic compounds with UHPLC-CAD method. 63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 23.08.2015-27.08.2015, Budapeszt, Węgry
- K6.** Piwowarski, J.P.; Kiss A.K.; Granica, S.; Moeslinger, T. Influence of urolithins on inflammatory response of RAW 264.7 murine macrophages. 63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 23.08.2015-27.08.2015, Budapeszt, Węgry
- K7.** Grochowski, D.M.; Wiater, A.; Pleszczyńska, M.; Tomczykowa, M.; Granica, S.; Tomczyk, M. *In vitro* anticariogenic effects of *Rubus caesius* extracts and their quality evaluation by HPLC-DAD-MS³ analysis. 63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 23.08.2015-27.08.2015, Budapeszt, Węgry
- K8.** Granica, S.; Piwowarski, J.P.; Kiss, A.K. The influence of tannins on the human neutrophils' pro-inflammatory mediators. 63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 23.08.2015-27.08.2015, Budapeszt, Węgry,
- K9.** Granica, S.; Piwowarski, J.P.; Randazzo, A.; Schneider, P.; Żyżyńska-Granica, B.; Zidorn, C. Anti-inflammatory stilbenoids and cannabispiradienone derivatives *Tragopogon tommasinii* Sch.Bip. from *Tragopogon tommasinii* Sch.Bip. 63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 23.08.2015-27.08.2015, Budapeszt, Węgry, wystąpienie ustne
- K10.** Stanisławska, I.; Granica, S.; Kiss, A.K. Effects of urolithins on prostate cancer cells and activity of antiandrogens. 63rd International Congress and Annual Meeting

- of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 23.08.2015-27.08.2015, Budapeszt, Węgry
- K11.** Granica, S.; Piwowski, J.P.; Kiss, A.K. Isolation of tannins from *Agrimonia eupatoria*, *Lythrum salicaria* and *Geum urbanum* and their influence on the release of elastase from stimulated human neutrophils – structure-activity studies. 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia, Planta Medica. 2014;80(16):P1L26
- K12.** Paduch, R.; Tomczyk, M.; Wiater, A.; Dudek, A.; Pleszczyńska, M.; Tomczykowa, M.; Granica, S.; Grochowski, D.M.; Kowalski, P. The influence of extracts from *Rubus caesius* leaves on human colon carcinoma cells cultured *in vitro*. 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia, Planta Medica. 2014;80(16):P1L37
- K13.** Piwowski, J. P.; Granica S.; Zwierzyńska, M., Stefańska, J.; Kiss, A.K., Role of human gut microbiota metabolism in the anti-inflammatory effect of traditionally used ellagitannin-rich plant materials. 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia, Planta Medica. 2014;80(16):P2B71
- K14.** Kummer, J.; Kiss, A.K.; Granica, S.; Melzig, M.F.; Identification of new phorbol ester derivatives in extracts from *Croton tiglium* L. Seeds by UHPLC-MS/MS and the approach of a quantification method after alkaline hydrolysis. 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia, Planta Medica. 2014;80(16):P2O32
- K15.** Granica, S.; Piwowski, J. P.; Kłębowska, A.; Krupa, K.; Kiss, A.K.; Photochemical investigations of *Polygonum aviculare*, *Agrimonia eupatoria* and *Lythrum salicaria* by HPLC-DAD-MS³-CAD method – application of corona charged aerosol detection (CAD) for analysis of plant phenolics. 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia, Planta Medica. 2014;80(16):P2O61
- K16.** Stanisławska, I.; Granica, S.; Kiss, A.K.; Comparison of anti-proliferative effects of urolithins, ellagitannin gut metabolites, and non-steroidal antiandrogens on androgen-dependent prostate cancer cell line LNCaP. 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia, Planta Medica. 2014;80(16):LP46
- K17.** Granica S.; Lohwasser, U.; Johrer, K.; Zidorn, C., Phytochemical investigations and bioactivity of *Scorzonera hispanica* (black salsify), Plant in Pharmacy and Nutrition 2014, The International Young Scientists Symposium, 30.05.2014, Wrocław, Polska, wystąpienie ustne
- K18.** Piwowski, J. P.; Granica S.; Zwierzyńska, M., Stefańska, J.; Kiss, A.K., Determination of human gut microbiota metabolism of traditionally used ellagitannin-rich medicinal plant materials by HPLC-DAD-MS/MS method, 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products, 26.05.2014-29.05.2014, Lublin, Polska
- K19.** Kiss, A.K.; Kłębowska, A.; Piwowski, J. P.; Kosiński, M.; Granica S, Identification of compounds from *Geum urbanum* roots affecting the expression of

interin CD11b in human neutrophils, 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products, 26.05.2014-29.05.2014, Lublin, Polska

K20. Piwowarski, J. P.; Granica S.; Kiss, A.K., Isolation and identification of tannins from domestic plant materials and their influence on release of elastase from stimulated human neutrophils, 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products, 26.05.2014-29.05.2014, Lublin, Polska

K21. Granica, S.; Piwowarski, J. P.; Kłębowska, A.; Krupa, K.; Kiss, A.K. The qualitative and quantitative analysis of chemical composition of some pharmacopeial plant materials with HPLC-DAD-MS³-CAD. The application of corona charged aerosol detector (CAD) in the analysis of plant phenolics, 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products, 26.05.2014-29.05.2014, Lublin, Polska, wystąpienie ustne

K22. Kiss, A.K.; Stolarczyk, M.; Piwowarski, J.; Granica, S. Effects of standardized extracts from *Epilobium* sp. Herbs on hormone-dependent prostate cancer cells (LNCaP)- searching for active compounds. XVIIIth International Congress of The Polish Pharmacological Society. 23.05.2013-25.05.2013. Kazimierz Dolny, Poland, Pharmacological Reports. 2013,65:13

K23. Piwowarski, J.P.; Granica, S.; Kiss, A.K. Isolation of ellagitannins from *Gei urbani radix cum rhizoma* and determination of extract's anti-inflammatory activity. 61st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 01.09.2013-05.09.2013. Munster, Germany, Planta Medica. 2013;79(13):PC12

K24. Piwowarski, J.P.; Granica, S.; Kiss, A.K. Influence of gut flora-derived ellagitannins' metabolites - urolithins on production and release of pro-inflammatory factors from stimulated neutrophils in the context of cardiovascular disease prevention. 61st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 01.09.2013-05.09.2013. Munster, Germany, Planta Medica. 2013;79(13):SL52

K25. Kiss, A.K., Granica, S. oraz Piwowarski, J.P. Effects of *Epilobium* sp. main constituents and ellagitannins metabolites, urolithins, on proliferation and prostate specific antigen (PSA) secretion in prostate cancer cells (LNCaP). 61st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 01.09.2013-05.09.2013. Munster, Germany, Planta Medica. 2013;79(13):PJ25

K26. Granica, S.; Czerwińska, M.E.; Żyżyńska-Granica, B.; Kiss, A.K. New acetylated flavonol glucuronides from *Polygoni avicularis herba* and their influence on some neutrophils' functions. 61st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. 01.09.2013-05.09.2013. Munster, Germany, Planta Medica. 2013;79(13):PJ17

K27. Piwowarski, J.; Granica, S.; Kiss, A.K. Influence of urolithins on prevention and extracellular matrix degradation triggered by stimulated neutrophils. The 17th International Congress Phytopharm 2013. 08.07.2013-10.07.2013. Vienna, Austria

K28. Granica, S.; Krupa, K.; Kłębowska, A.; Kiss, A.K. Comprehensive study on qualitative and quantitative composition of pharmacopoeial plant material - *Agrimoniae eupatoriae herba* (Ph.E.) by HPLC-DAD-MS-CAD. The 17th International Congress Phytopharm 2013. 08.07.2013-10.07.2013. Vienna, Austria

- K29.** Stolarczyk, M.; Granica, S.; Naruszewicz, M.; Kiss, A.K. Extracts from *Epilobium* sp. herbs inhibit proliferation, PSA secretion and induce apoptosis in prostate cancer cells (LNCaP). 8th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, International Congress on Natural Products Research. 28.07.2012-01.08.2012. New York, USA, Planta Medica. 2012;78(11):PI269
- K30.** Granica, S.; Kiss, A.K.; Czarnocki, Z. Synthesis of imperatorin analogues and their evaluation as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. 8th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, International Congress on Natural Products Research. 28.07.2012-01.08.2012. New York, USA, Planta Medica. 2012;78(11):PD35
- K31.** Granica, S.; Czerwińska, M.E.; Piwowarski, J.P.; Kiss, A.K. Chemical composition and biological activities of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok aerial parts' extracts. 8th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, International Congress on Natural Products Research. 28.07.2012-01.08.2012. New York, USA, Planta Medica. 2012;78(11):PI268
- K32.** Czerwińska, M.E.; Granica, S.; Kiss, A.K. Effect of aqueous extract from *Ligustrum vulgare* L. on ROS production and other functions of human neutrophils. 8th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, International Congress on Natural Products Research. 28.07.2012-01.08.2012. New York, USA, Planta Medica. 2012;78(11):PF39
- K33.** Granica, S.; Kiss, A.K. Polyphenol composition of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok by HPLC-DAD-MS² method. 8th International Symposium on Chromatography of Natural Products. 17.05.2012-20.05.2012. Lublin, Poland
- K34.** Bazyłko, A.; Szyller, N.; Granica, S.; Osińska, E.; Kiss, A.K. Composition investigations of aqueous and water-ethanol extracts of *Tropaeolum majus* L. herb using HPTLC and HPLC-DAD-MS. 8th International Symposium on Chromatography of Natural Products. 17.05.2012-20.05.2012. Lublin, Poland
- K35.** Stolarczyk, M.; Piwowarski, J.; Granica, S.; Naruszewicz, M.; Kiss, A.K. The influence of standardized extracts from *Epilobium* sp. herbs on apoptosis of hormone dependent prostate cancer cells (LNCaP). 2nd International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 18.10.2012-20.10.2012. Lublin, Poland
- K36.** Piwowarski, J.; Granica, S.; Kosiński, M.; Kiss, A.K. Phytochemical screening of *Gei urbani radix cum rhizoma* and its anti ECM degrading activity. 2nd International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 18.10.2012-20.10.2012. Lublin, Poland
- K37.** Granica, S.; Kiss, A.K. Isolation and identification of polyphenolic compounds from enchanter's nightshade (*Circaea lutetianae herba*). 2nd International Conference and Workshop – Plant – the source of research material. 18.10.2012-20.10.2012. Lublin, Poland

9. Współpraca naukowa

- W1.** współpraca z Katedrą Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (dr hab. Michał Tomczyk) w zakresie analizy składu

jakościowego wyciągów przygotowanych z roślin z rodzaju *Rubus* i *Potentilla* metodą HPLC-DAD-MS

- W2.** współpraca z Institute of Agricultural and Nutritional Science, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg (dr Holger Kluge) w zakresie analizy składu jakościowego i ilościowego próbek roślin z rodzaju *Agrimonia*, oznaczanie ilościowego głównego składnika – agrimoniny
- W3.** współpraca z Zakładem Mikrobiologii Przemysłowej, Wydział Biologii UMCS w Lublinie (dr hab. Adrian Wiater) w zakresie określenia różnic w składzie dostarczonych próbek piwa
- W4.** współpraca z Katedrą Farmakognozji, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (mgr Piotr Michel oraz prof. Monika Olszewska) w zakresie analizy jakościowej wyciągów z *Gaultheria procumbens* oraz *Brassica oleracea*
- W5.** współpraca z Zakładem Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Kilonii/Instytutem Farmacji/Farmakognozji Uniwersytetu w Innsbrucku (prof. Christian Zidorn) w zakresie analizy składu jakościowego wyciągów z części podziemnych i nadziemnych roślin z rodziny Asteraceae oraz próbek traw morskich.
- W6.** współpraca z Zakładem Chemii Związków Pochodzenia Naturalnego, Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego (prof. Zbigniew Czarnocki) w zakresie syntezy metabolitów pochodnych flawan-3-olu
- W7.** współpraca z Katedrą Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytet Medycznego w Lublinie (dr Katarzyna Szewczyk) w zakresie analizy składu części nadziemnych roślin z rodzaju niecierpek (*Impatiens* sp.)
- W8.** współpraca z Katedrą Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytet Medycznego we Wrocławiu (dr hab. Adam Matkowski) w zakresie analizy składu części nadziemnych roślin z rodzaju *Agrimonia* oraz *Fallopia*
- W9.** współpraca z Institut für Pharmazie/Pharmazeutische Biologie, Freie Universität Berlin (mag. Josha Kummer oraz prof. dr. Matthias Melzig) analiza składu homeopatycznych nalewek z roślin z rodzaju *Jatropha* oraz *Croton*
- W10.** współpraca z Instytutem Farmacji/Farmakognozji Uniwersytetu w Innsbrucku (prof. Hermann Stuppner oraz dr Birgit Waltenberger) w zakresie izolacji związków polifenolowych oraz seskwiterpenowych z *Eupatorium cannabinum* L.

10. Udział w projektach badawczych

- P1.** od 01.2016 **kierownik projektu** „Badania fitochemiczne oraz ocena właściwości przeciwzapalnych i przeciwbakteryjnych wyciągów przygotowywanych z farmakopealnej substancji roślinnej kwiat lipy (*Tiliae flos*)” projekt NCN w ramach konkursu Sonata 2015/17/D/NZ7/02641; realizowany w latach 2016-2019
- P2.** od 05.2014 **kierownik projektu** „Izolacja oraz oznaczanie ilościowe składników farmakopealnej substancji roślinnej - ziela rdestu ptasiego (*Polygoni avicularis herba*).“ projekt MNiSW w ramach konkursu Iuventus Plus 9006/IP1/2014/72; realizowany w latach 2014-2016

- P3.** 07.2013-07.2015 **kierownik projektu** „Wpływ wybranych elagotanoidów na funkcje ludzkich neutrofilów w kontekście prewencji i leczenia chorób jamy ustnej - badania strukturalne i aktywność” projekt NCN w ramach konkursu Preludium 2012/07/N/NZ7/01136; realizowany w latach 2013-2015
- P4.** 10.2013-09.2014 **kierownik projektu** „Badania fitochemiczne i biologiczne wybranych surowców roślinnych z rodziny wiesiołkowatych (Oenotheraceae).” projekt NCN w ramach konkursu Etidua 2013/08/T/NZ7/00318; realizowany w latach 2013-2014
- P5.** 06.2012-12.2014 **wykonawca projektu** „Czy wyciągi pozyskiwane z *Epilobium* sp. mogą hamować proliferację komórek prostaty LNCaP poprzez wpływ na aktywność acetylotransferazy histonowej (HAT)?” Projekt Sonata NCN 2011/01/D/NZ4/01261; realizowany w latach 2012-2014
- P6.** 06.2012-08.2014 **wykonawca projektu** „Wpływ metabolitów elagotanoidów produkowanych przez bakterie flory jelitowej- urolityn na prozapalną aktywność neutrofilów w kontekście chorób układu sercowo naczyniowego.” Projekt Preludium NCN 2011/03/N/NZ7/01785; realizowany w latach 2012-2014
- P7.** 06.2012-06.2013 **kierownik projektu** „Ziele czartawy pospolitej jako źródło wycigów i związków naturalnych o działaniu przeciwzapalnym.” Projekt młodego naukowca nr FW25/PM31D/12; realizowany w latach 2012-2013
- P8.** 07.2009-03.2010 **kierownik i wykonawca** mini-grantu studenckiego przyznanego przez Warszawski Uniwersytet Medyczny

11. Staże naukowe

- N1.** 02.2016 – Polska, Białystok, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Zakład Farmakognozji Wydziału Farmaceutycznego, dwutygodniowy staż naukowy pod opieką dr hab. Michała Tomczyka
- N2.** 11.2015 – Austria, Innsbruck, Uniwersytet w Innsbrucku, Instytut Farmacji, jednomiesięczny staż naukowy pod opieką prof. Hermana Stuppnera w ramach programu MNiSW wymiany osobowej z Republiką Austrii
- N3.** 03.2015, 06.2015, 07.2015 oraz 10.2015 – Włochy, Pozzuoli, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Institute of Biomolecular Chemistry, cztery jednotygodniowe pobyty naukowe pod opieką prof. Christiana Zidorna w ramach Programu Mentoring FNP
- N4.** 10.2013 - 04.2014 – Austria, Innsbruck, Uniwersytet w Innsbrucku, Instytut Farmacji, sześciomiesięczny staż naukowy pod opieką prof. Christiana Zidorna w ramach programu Etiuda NCN
- N5.** 09.2008 – Polska, Warszawa, Uniwersytet Warszawski, Zakład Biochemii Roślin Wydziału Biologii, jednomiesięczny staż naukowy pod opieką dr Agnieszki Mroczek

12. Nagrody i stypendia za działalność naukową

- ST1.** 12.2015-12.2018 – stypendium MNiSW dla wybitnych młodych naukowców
- ST2.** 10.2015 - nagroda naukowa III stopnia przyznawana przez JM Rektora WUM za współautorstwo przeglądowej pracy naukowej na temat roślin z rodzaju *Epilobium* oraz za współautorstwo pracy naukowej dotyczącej badań nad aktywnością biologiczną metabolitów elagotanoidów

- ST3.** 02.2015 – laureat programu Skills Mentoring finansowanego przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej
- ST4.** 11.2014 – zespołowa nagroda naukowa II stopnia przyznawana przez JM Rektora WUM za współautorstwo w cyklu publikacji pt.: „Badania składu surowców roślinnych metodami chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz metodą magnetycznego rezonansu jądrowego, ze szczególnym uwzględnieniem flawonoidów i elagotanoidów”
- ST5.** 05.2014 – I nagroda za najlepszą prezentację ustną w ramach konferencji Plant in Pharmacy and Nutrition 2014, The International Young Scientists Symposium, 30.05.2014, Wrocław
- ST6.** 05.2014 – stypendium START dla młodych uczonych finansowane przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej
- ST7.** 04.2014 – travel grant dla młodych naukowców w ramach 62 dorocznego spotkania Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, 31.08.2014-04.09.2014, Guimaraes, Portugalia
- ST8.** 12.2013 – stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla najlepszych doktorantów za osiągnięcia naukowe
- ST9.** 11.2013 – zespołowa nagroda naukowa II stopnia przyznawana przez JM Rektora WUM za współautorstwo w cyklu publikacji pt.: „Badania składu surowców roślinnych metodami chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz metodą magnetycznego rezonansu jądrowego, ze szczególnym uwzględnieniem flawonoidów i elagotanoidów”
- ST10.** 07.2013 – III nagroda za najlepszą prezentację posterową w ramach konferencji The 17th International Congress Phytopharm 2013. 08.07.2013-10.07.2013. Vienna, Austria
- ST11.** 10.2013-09.2014 – stypendium doktorskie w ramach programu Etiuda organizowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Krakowie
- ST12.** 09.2010-06.2011, 09.2011-06.2012, 09.2012-06.2013 oraz 09.2013-06.2014 – stypendium JM Rektora WUM dla najlepszych doktorantów za osiągnięcia naukowe
- ST13.** 09.2010-08.2011 – stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla najlepszych studentów (Wydział Chemii UW)

13. Kursy i szkolenia

- S1.** 08.2010 - Niemcy, Bremen, Bruker Daltonics, jednodzienne szkolenie z zakresu metody HPLC-MS

14. Członkostwo w towarzystwach naukowych

- C1.** od 2013 roku jestem członkiem the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA)

15. Działalność organizacyjna

Od sierpnia 2015 roku jestem członkiem Rady Młodych Naukowców V kadencji powoływanej jako organ doradczy Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego RP.

16. Recenzje prac naukowych

Od października 2013 występowałem w roli recenzenta 40 prac naukowych złożonych do publikacji w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *PLoS One* (1), *Phytochemistry Letters* (2), *Phytochemistry* (1), *Phytomedicine* (1), *Phytochemical Analysis* (3), *Planta Medica* (2), *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (10), *BMC Complementary and Alternative Medicine* (1), *Acta Physiologiae Plantarum* (1), *Chemical Papers* (1), *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* (1), *Scientia Pharmaceutica* (1), *Biochemical Systematics and Ecology* (1), *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (1), *Arabian Journal of Chemistry* (1), *Journal of Separation Science* (1), *Chemical Papers* (1), *Drug Design, Development and Therapy* (1), *Molecules* (5), *Fitoterapia* (1), *The World Scientific Journal* (1), *International Journal of Molecular Sciences* (1), *Journal of Ethnopharmacology* (1)

17. Podsumowanie osiągnięć naukowo-badawczych

Mój dorobek naukowy obejmuje:

- 32 prace oryginalne opublikowane w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). W 20 pracach byłem pierwszym autorem bądź pełniłem rolę autora korespondencyjnego.
- 4 prace przeglądowe z czego 3 zostały opublikowane w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). W jednej pracy byłem pierwszym autorem.
- 37 streszczeń z prezentowanych doniesień na konferencjach naukowych w tym 3 wystąpienia ustne
- udział w 8 projektach badawczych finansowanych przez NCN/MNiSW/WUM
- sumaryczny współczynnik *Impact Factor* według listy JCR zgodnie z rokiem opublikowania **82,812**; łączna punktacja MNiSW: **1054** pkt
- liczba wszystkich cytowań publikacji według bazy *Web of ScienceTM Core Collection*: **158 (180 wg bazy Scopus)**
- liczba cytowań (bez autocytowań) według bazy *Web of ScienceTM Core Collection*: **108 (131 wg bazy Scopus)**
- index Hirsha (*h-index*) według *Web of ScienceTM Core Collection*: **7 (8 wg bazy Scopus)**

