

dr hab. Irma Podolak  
Katedra i Zakład Farmakognozji  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum  
ul. Medyczna 9  
30-688 Kraków



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

Kraków, dn. 5.11.2020

Wydział Farmaceutyczny

**RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**pani mgr biol. Barbary Gierlikowskiej**

**pt.**

**„Wybrane związki z roślin należących do rodziny *Asteraceae*: ocena  
aktywności biologicznej i mechanizmów działania”**

zrealizowanej w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

pod opieką naukową Promotora, pani prof. dr hab. Anny K. Kiss

Katedra Farmakognozji

Badania przedstawione w dysertacji doktorskiej mgr Barbary Gierlikowskiej stanowią przykład bardzo dobrze zaplanowanego i logicznie rozwijanego eksperymentu, odpowiadającego wyzwaniom współczesnej farmakognozji i fitoterapii. Jego nadrzędnym celem było uzasadnienie tradycyjnego kierunku stosowania surowców roślinnych, wraz z określeniem składników czynnych odpowiedzialnych za aktywność, oraz wskazaniem ich mechanizmów działania. Model badawczy stanowiło w tym przypadku siedem gatunków z rodziny *Asteraceae*, o udokumentowanym zastosowaniu w leczeniu schorzeń układu oddechowego. Do ich oceny wybrano zróżnicowany zestaw testów *in vitro* pozwalający określić aktywność przeciwzapalną na poziomie komórkowym. Podstawą ukierunkowania badań biologicznych na proces zapalny było przeanalizowanie przez Autorkę danych naukowych, potwierdzających jego znaczenie w przebiegu schorzeń układu oddechowego o podłożu wirusowym i bakteryjnym.

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 (12) 620 55 60

fax +48 (12) 620 55 75

farmakog@cm-uj.krakow.pl

www.farmacja.cm-uj.krakow.pl

Tematyka badań jest w mojej ocenie aktualna i wartościowa. Wiedza o składnikach czynnych roślin, które w rzeczywisty sposób przekładają się na efektywność terapeutyczną stosowanych surowców, jest kluczowa, m.in. dla ich właściwej standaryzacji oraz porównywania danych z badań klinicznych, i stanowi o jakości nowoczesnych fitoterapeutyków. Z kolei pełniejsze poznanie mechanizmów działania izolowanych związków przyczynia się do poszerzenia bibliotek aktywnych substancji i możliwości poszukiwań związków wiodących ukierunkowanych na konkretny cel molekularny. Nie ulega wątpliwości, że badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej pani mgr Gierlikowskiej są zbieżne z tymi potrzebami.

Szeroko zarysowany zakres prac badawczych został logicznie usystematyzowany, poprzez wyznaczenie celu wiodącego oraz celów szczegółowych. Wyniki badań wstępnych zmierzały do wyselekcjonowania obiektów dalszych badań i sukcesywnego wprowadzania coraz bardziej specyficznych testów aktywności biologicznej, aby w efekcie wytypować najbardziej aktywny związek wiodący, rokujący sukces w dalszych badaniach w modelach *in vivo*.

Chciałabym w tym miejscu podkreślić, że taka struktura prowadzenia eksperymentu świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki i zasługuje na duże uznanie.

Zgodnie z przyjętym planem, w pierwszym etapie badań dokonano oceny aktywności przeciwzapalnej wyciągów z siedmiu, wybranych w oparciu o literaturowe dane etnomedyczne, surowców. Były to: kwiat słonecznika zwyczajnego (*Helianthus annuus* L.), ziele akmeli (*Acmelia ciliata* (Kunth) Cass.), ziele krwawnika kichawca (*Achillea ptarmica* L.), ziele dogłedy nastroszonej (*Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal), ziele sadźca konopiastego (*Eupatorium cannabinum* L.), korzeń bertramu lekarskiego (*Anacyclus pyrethrum* L.) oraz korzeń omanu wielkiego (*Inula helenium* L.). Potencjał przeciwzapalny przygotowanych wyciągów etanolowo-wodnych porównywano w modelu ludzkich neutrofile analizując, wpływ na ekspresję specyficznych białek adhezyjnych (CD11b/CD18 i CD62L), uwalnianie prozapalnych chemokin i cytokin (IL-8 i TNF- $\alpha$ ) oraz produkcję reaktywnych form tlenu. Wyniki odnoszono do kontroli pozytywnych, które stanowiły dwa leki stosowane rutynowo w infekcjach górnych dróg oddechowych z towarzyszącym stanem zapalnym, mianowicie klarytromycyna oraz budezonid.

W przypadku niemal wszystkich analizowanych surowców (za wyjątkiem ziela akmeli) zaobserwowano wyraźne zahamowanie uwalniania reaktywnych form tlenu przez neutrofile stymulowane f-MLP. Z kolei wyniki dwóch pozostałych testów, okazały się bardziej zróżnicowane, co pozwoliło Doktorantce wytypować do dalszych badań surowce o wyróżniającym się potencjale przeciwzapalnym, tj. korzeń omanu wielkiego, ziele dogłedy nastroszonej, ziele akmeli i ziele sadźca

konopiastego. Wszystkie charakteryzowały się wysoką aktywnością wyrażoną zahamowaniem ekspresji analizowanych białek powierzchniowych w neutrofilach stymulowanych lipopolisacharydem (LPS) oraz inhibicją uwalniania IL-8 i TNF- $\alpha$ .

Zgodnie z założeniami, w kolejnym etapie zbadano aktywność przeciwzapalną pojedynczych metabolitów, reprezentatywnych dla surowców wyselekcjonowanych na podstawie ww. badań wstępnych. Ich wybór oparto o analizę profilu fitochemicznego HPLC-DAD-MS. W przypadku korzeni *Inula helenium* wytypowano alantolakton, ziela *Grindelia squarrosa* – kwas grindeliowy, ziela *Acmelia ciliata* – spilantol, a dla ziela *Eupatorium cannabinum* – pięć laktonów seskwiterpenowych: eupatoriopikrynę, 5'deoksyeupatoriopikrynę oraz hiadorolaktony A, B i D. Większość związków stanowiły izolaty o czystości  $\geq 97\%$  pozyskane w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii WUM oraz University of Campinas w Brazylii, dwa, tj. alantolakton i kwas grindeliowy to komercyjnie dostępne substancje referencyjne.

Głównym celem tego etapu badań było potwierdzenie na tym samym modelu eksperymentalnym, który zastosowano do analizy wyciągów wyjściowych, czy wyselekcjonowane związki odpowiadają za aktywność. Uzyskane wyniki potwierdziły tę hipotezę, niemniej wartości liczbowe ocenianych kwantyfikatorów stanu zapalnego wskazywały na wyraźną przewagę trzech laktonów seskwiterpenowych, występujących w ziele sadźca konopiastego, tj. eupatoriopikryny, 5'deoksyeupatoriopikryny i hiadorolaktonu B, które w konsekwencji poddano szerszym badaniom ukierunkowanym na określenie mechanizmów działania.

W tym celu Doktorantka rozwinęła model badawczy, poszerzając go o analizę uwalniania przez neutrofile enzymu proteolitycznego – elastazy, oraz kolejnej cytokiny – IL-1 $\beta$ , charakterystycznej dla wczesnej fazy stanu zapalnego. Dodatkowo, wykorzystwała linię komórkową śródbłonka (HUVEC), do oceny wpływu ww. związków na ekspresję białek adhezyjnych ICAM-1, VACAM-1 oraz E-selektyny. Brak efektu wobec tych ostatnich skłonił Doktorantkę do zaprojektowania dodatkowego eksperymentu, który pokazałby faktyczny obraz adhezji neutrofilów do komórek śródbłonka. W tym celu przygotowała ko-hodowlę obu ww. rodzajów komórek obserwując mikroskopowy obraz interakcji między nimi pod wpływem eupatoriopikryny, którą wybrała jako związek testowy. Dzięki tej dogłębnej analizie można było jednoznacznie stwierdzić, że choć badany lakton nie miał wpływu na ekspresję białek adhezyjnych śródbłonka, to dzięki silnej inhibicji ekspresji integryny CD11b/CD18, która jest jednym z białek powierzchniowych neutrofilów, był zdolny do zahamowania adhezji tych ostatnich do śródbłonka.

W oparciu o zachęcające wyniki, uzyskane dla eupatoriopikryny, w końcowym etapie swoich badań pani mgr Gierlikowska jeszcze szerzej zarysowała spektrum

analiz tego związku, odnosząc się nie tylko do mechanizmów aktywności przeciwwzpalnej *in vitro*, lecz również takich, które mogą mieć znaczenie w ograniczaniu infekcji dróg oddechowych, wywołanych patogennymi szczepami bakteryjnymi. W ich efekcie wykazała, że eupatoriopikryna hamuje aktywność kinaz aktywowanych mitogenami, takich jak kinaza p38 i ERK1/2, oraz translokację czynnika transkrypcyjnego p65 NF- $\kappa$ B z cytozolu do jądra, a także nasila apoptozę neutrofilii. Pod wpływem badanego związku zaobserwowano ponadto zwiększenie właściwości fagocytarnych makrofagów wobec gronkowca złocistego, a także zdolności tworzenia fagolizosomów, natomiast nie wykazano bezpośredniej aktywności bakteriobójczej.

Podsumowując – wszystkie założone cele pracy zostały zrealizowane. Uzyskane dane eksperymentalne potwierdziły zasadność stosowania wybranych do badań surowców we wskazaniach określonych tradycją. Ma to niewątpliwe praktyczne przełożenie na potencjalne rozpatrywanie tych substancji roślinnych jako składników nowo projektowanych fitoterapeutyków.

Ponadto, przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania znacząco poszerzyły wiedzę o molekularnych mechanizmach hamowania stanu zapalnego przez główne metabolity w nich zawarte. Doktorantka uzyskała szereg wyników, które bezsprzecznie stanowią element nowości w skali światowej. Odnoszą się one przede wszystkim do mechanizmów działania związków, m.in. alantolaktonu, spilantolu, kwasu grindeliowego, a zwłaszcza eupatoriopikryny, w przypadku której spektrum wyników predestynuje ten lakton seskwiterpenowy do kontynuacji badań w modelach *in vivo*.

Chcę w tym miejscu podkreślić, że wielość przeprowadzonych przez Doktorantkę doświadczeń, ich zróżnicowanie oraz wnikliwa analiza wyników determinująca projektowanie kolejnych etapów badań, budzą ogromny podziw. Zwłaszcza zwraca uwagę logika stopniowej redukcji obiektów badawczych, z jednoczesnym rozwijaniem wachlarza analiz dla tych najbardziej aktywnych, o czym wspomniałam już wcześniej w recenzji. Pani mgr Gierlikowska wykazała się jednak nie tylko umiejętnością dobrego planowania, lecz także elastycznością i inwencją w doborze eksperymentów, które weryfikowały niejasności wyników cząstkowych.

Oceniając wybór metod i narzędzi badawczych stwierdzam, że jest trafny i zgodny z przyjętymi standardami. Doktorantka wykorzystwała m.in. cytometrię przepływową, pomiary chemiluminescencji i absorpcji, technikę Western blot, czy – dla oceny właściwości przeciwbakteryjnych – metodę dyfuzyjno-krażkową. Szczegółowy opis wszystkich doświadczeń, zapewniający możliwość ich odtworzenia, jest zawarty w rozdziale 3 dysertacji pt. Materiały i metody. W tym miejscu warto odnotować, że zajmuje on mniej więcej 1/4 objętości manuskryptu,

co jednak tylko częściowo odzwierciedla ogrom wykonanej przez Doktorantkę pracy eksperymentalnej.

Jeśli chodzi o sam układ rozprawy doktorskiej, dobór piśmiennictwa (obejmującego 202 pozycje) oraz poprawność formalno-językową nie mam większych zastrzeżeń. Praca jest zwarta, obejmuje 103 strony wraz z literaturą, spisem tabel i rycin. Jej główny trzon stanowią cztery rozdziały tj. część teoretyczna, po której następuje opis celu pracy, następnie materiały i metody, wyniki, i wreszcie dyskusja, wzbogacona wnioskami i streszczeniem elementów nowości. Na pochwałę zasługuje styl, bardzo klarowny mimo opisu trudnych zagadnień, oraz dopracowanie strony edytorskiej, nie dostrzegłam tu znaczących uchybień. Opis metod jest kompletny, wyniki są przedstawione czytelnie i odpowiednio zilustrowane. Niemniej z obowiązku recenzenta wymieniam kilka przykładów gdzie w opisie zabrakło precyzji:

Tabela 2 (rozdz. 3, str.25) – pod hasłem „wyciągi roślinne” widnieją nazwy gatunkowe, bez wskazania surowców;

p. 3.4.1 (str.34) – w opisie testu LDH brakuje wzmianki o Tritonie, który stanowił kontrolę negatywną, jest on ujęty tylko w legendzie do wzoru obliczeń;

p.3.4.11 (str.46) – w opisie liczenia żywych kolonii brakuje informacji o metodzie liczenia (np. użycia automatycznego licznika kolonii).

Jeśli chodzi o podział treści, to w części teoretycznej Autorka skupiła się na krótkim przedstawieniu etiopatogenezy chorób górnych dróg oddechowych o podłożu bakteryjnym oraz reakcji układu odpornościowego, w tym przebiegu odpowiedzi nieswoistej wraz z późniejszym rozwojem ostrego stanu zapalnego. Jest to dobry wstęp do dalszego śledzenia wyników przeprowadzonych eksperymentów i dyskusji. W dalszych podrozdziałach omówione zostały możliwości terapii wymienionych schorzeń przy użyciu antybiotyków, kortykosteroidów oraz leków pochodzenia roślinnego, po czym następuje bezpośrednio przejście do celu pracy.

Moje obiekcje budzi brak w części teoretycznej nawet krótkiej charakterystyki surowców, które stanowią przedmiot badań. Wprawdzie kilka paragrafów opisujących analizowane gatunki pojawia się w dyskusji, ale są one niepełne, omówiono jedynie *Eupatorium cannabinum*, *Inula helenium* i *Acmelia ciliata*. Nawet jeśli wybór ten uzasadniony był wynikami badań wstępnych i przedstawieniem wyłącznie tych roślin, z których pochodziły izolowane związki użyte w dalszych etapach badań, to zaskakuje tu brak choć kilku zdań o *Grindelia squarrosa*.

Niedosyt pozostawia we mnie także dość oględne uzasadnienie wyboru gatunków do badań. Autorka skupia się na rodzinie *Asteraceae* motywując to przede wszystkim liczebnością gatunków oraz ich dostępnością. Powody dla których zdecydowała się na analizę akurat tych siedmiu surowców nie są w pełni

przekonywujące. To przecież nie jedyne przykłady substancji roślinnych z rodziny *Asteraceae* o udokumentowanym zastosowaniu w medycynie tradycyjnej w leczeniu schorzeń górnych dróg oddechowych, stąd ciekawiło mnie jaki przyjęto klucz. Cytowania w tabeli 10, w której Autorka zestawia informacje o kierunkach wykorzystania wybranych surowców, wskazują na dość duży rozrzut geograficzny (Europa, Afryka Północna, Ameryka Południowa), a dalszy opis na ich zróżnicowaną pozycję w lecznictwie na danym terenie. Przykładem może być korzeń omanu wielkiego *Inula helenium*, który był surowcem farmakopealnym *versus* ziele krwawnika kichawca *Achillea ptarmica*, który pozostaje w kręgu ludowego ziołolecznictwa. Zaskakuje również wybór sadzca konopiastego *Eupatorium cannabinum*, którego wykorzystywanie w leczeniu schorzeń górnych dróg oddechowych jest wykluczone z racji obecności hepatotoksycznych alkaloidów pirolizydynowych, na co Doktorantka sama zwraca uwagę w dyskusji, wskazując na rekomendowany aktualnie inny gatunek – *E. perfoliatum*. Dlaczego nie zdecydowano się na zbadanie ziele właśnie tego gatunku? Szczególnie, że surowiec był tradycyjnym lekiem przeciwprzeziębieniowym u plemion Indian północnoamerykańskich, i zawiera inny zestaw laktonów seskwiterpenowych niż sadziec konopiasty.

Kolejna moja uwaga dotyczy kwestii zdefiniowania fitochemicznego wyciągów użytych do badań. W rozdziale 4 przedstawiającym wyniki (p.4.1) Doktorantka odnotowuje: "Badania HPLC-MS przeprowadzone w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii WUM potwierdziły obecność głównych lipofilnych składników obecnych w wyselekcjonowanych wyciągach". Niestety chromatogramów lub też tabelarycznego zestawienia wyników nie zamieszczono. Główny ciężar pracy stanowią wprawdzie badania biologiczne ale charakterystyka profilu fitochemicznego jest nieodłącznym elementem takich badań, zwłaszcza w przypadku złożonych wyciągów pozyskanych z surowców o różnej proveniencji. Skoro właśnie ta analiza pozwoliła Doktorantce wytypować pojedyncze związki do bardziej zaawansowanych badań, jej wyniki powinny znaleźć się w manuskrypcie, np. w aneksie.

Brak tych danych prowadzi w konsekwencji do kolejnego pytania. W dyskusji Doktorantka omawiając badane przez siebie związki odnosi się do ich dominującej pozycji wśród innych składników zawartych w danym surowcu. Jednak nie wiadomo, czy wspomniana analiza HPLC-DAD-MS wyciągów, które są materiałem badawczym, obejmowała także ocenę ilościową. W tekście dyskusji, danym liczbowym mówiącym o zawartości towarzyszy wyłącznie odnośnik literaturowy. Na przykład (str.75) „Analiza fitochemiczna wyraźnie wskazała alantolakton jako dominujący związek w korzeniu omanu wielkiego (alantolakton, 52,4%)” jako źródło podana została tu praca Bourella et al. z roku 1993. Dalej (str. 78) stwierdzając, że „Spośród wspomnianych dotychczas laktonów seskwiterpenowych, eupatoriopikryna jest dominującym laktonem seskwiterpenowym w ziele sadzca konopiastego” Autorka cytuje dane z 1971 roku.

Biorąc pod uwagę ogólnie znany problem wahań w zawartości fitoskładników uzależniony m.in. od warunków glebowoklimatycznych nie można założyć, że w każdym sorcie surowca poziom ww. związków będzie zbliżony.

Wreszcie, odnosząc się do bardzo obiecujących wyników badań uzyskanych dla eupatoriopikryny i wyrażonej przez Doktorantkę opinii, że „potencjalnie mogłaby ona znaleźć zastosowanie na każdym etapie leczenia infekcji dróg oddechowych” rodzi się pytanie o perspektywy pozyskiwania tego związku na większą skalę i potencjalne możliwości izolacyjne. Czy jedynie sadziec konopiasty może stanowić źródło do izolacji? Warto byłoby również skomentować ewentualny potencjał alergizujący eupatoriopikryny związany z obecnością w strukturze tego związku  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonu.

W tym miejscu chcę podkreślić, że powyższe uwagi w żaden sposób nie umniejszają rangi naukowej przeprowadzonych przez panią mgr Gierlikowską badań, które oceniam bardzo wysoko. Skala projektu jednoznacznie dowodzi Jej wysokich umiejętności i opanowania szeregu metod i technik stosowanych w badaniach mechanizmów komórkowych, a także analitycznego podejścia do interpretacji danych i swobody dyskusji.

Realizacja tak szerokiego i kosztochłonnego spektrum analiz była możliwa dzięki dofinansowaniu, które Doktorantka otrzymała od Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w ramach programu *Grant Młodego Badacza* oraz od towarzystwa naukowego *Society for Medicinal Plant and Natural Product Research*. Dodatkowo, korzystając ze wsparcia programu UE *Erasmus Plus*, współpracowała przy realizacji niektórych etapów badań z Uniwersytetem Cambridge.

Uzyskane w ramach pracy doktorskiej wyniki zostały częściowo opublikowane w formie trzech artykułów oryginalnych (w dwóch z nich pani mgr Gierlikowska jest pierwszym autorem) oraz pięciu doniesień na konferencjach międzynarodowych. Wszystkie publikacje ukazały się w renomowanych czasopismach o bardzo wysokim łącznym współczynniku oddziaływania *impact factor* wynoszącym 11,152 (275 punktów MNiSW).

Podsumowując, w mojej opinii rozprawa doktorska pani mgr Barbary Gierlikowskiej spełnia wszelkie wymagania stawiane doktoratom z zakresu nauk farmaceutycznych. Zawarte w niej treści świadczą o wysokich kompetencjach naukowych Autorki. Tematyka pracy jest bardzo ciekawa, posiada wyraźny walor poznawczy i wpisuje się w aktualne badania nad lekiem pochodzenia naturalnego. Uzyskane wyniki, które opublikowano na łamach renomowanych czasopism z bazy JCR, potwierdzają walor naukowy prowadzonych przez Doktorantkę badań i stanowią istotny wkład w literaturę światową z obszaru farmakognozji i fitoterapii.

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie pani magister Barbary Gierlikowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej, co zawarłam w odrębnym piśmie skierowanym do Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych WUM.

Katedra i Zakład  
Farmakogenetyki UJCM  
  
Prof. Irma Podolak  
Irma Podolak rownik





UNIwersYTET  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

## WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

pani mgr Barbary Gierlikowskiej

pt.

„Wybrane związki z roślin należących do rodziny Asteraceae: ocena aktywności biologicznej i mechanizmów działania”

Niniejszym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyznanie wyróżnienia przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej pani mgr biol. Barbary Gierlikowskiej pt. „Wybrane związki z roślin należących do rodziny Asteraceae: ocena aktywności biologicznej i mechanizmów działania”.

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Farmakognozji

Tematyka w/w doktoratu bardzo dobrze wpisuje się w światowe badania nad roślinami leczniczymi, w kontekście poznania ich aktywności farmakologicznej, z uwzględnieniem molekularnych mechanizmów działania. Szczególnie znaczenie ma tu rewizja tradycyjnych kierunków stosowania surowców wraz z wyselekcjonowaniem głównych składników odpowiedzialnych za określony profil aktywności. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę pozwoliły prześledzić te kwestie dla siedmiu surowców z rodziny *Asteraceae*, o ugruntowanym znaczeniu etnomedycznym w leczeniu infekcji dróg oddechowych. Skoncentrowano się w nich na dogłębnej analizie mechanizmów aktywności przeciwzapalnej wyciągów oraz izolowanych związków, w oparciu o szereg eksperymentów przeprowadzonych na modelach z użyciem ludzkich neutrofilów oraz komórek śródbłonna.

Zakres przeprowadzonych badań jest bardzo szeroki, a uzyskane wyniki są nowatorskie, posiadają wysokie walory poznawcze oraz potencjał aplikacyjny. Doktorantka potwierdziła zasadność stosowania wybranych do badań surowców we wskazaniach określonych tradycją. Wykazała, że wyciągi z kwiatu słonecznika zwyczajnego (*Helianthus annuus* L.), ziela akmeli (*Acmelia ciliata* (Kunth) Cass.), ziela krwawnika kichawca (*Achillea ptarmica* L.), ziela dogłedy nastroszonej (*Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal), ziela sadzka konopiastego (*Eupatorium cannabinum* L.), korzenia bertramu lekarskiego (*Anacyclus pyrethrum* L.) oraz korzenia omanu wielkiego (*Inula helenium* L.) modulują prozapalne funkcje neutrofilów, m.in. poprzez zahamowanie ekspresji białek powierzchniowych, wydzielania mediatorów prozapalnych i reaktywnych form tlenu. Określenie mechanizmów działania ma niewątpliwie praktyczne przełożenie na potencjalne rozpatrywanie tych substancji roślinnych jako składników nowo projektowanych fitoterapeutyków.

Kolejnym ważnym osiągnięciem jest uzyskanie danych o mechanizmach działania izolowanych związków (w tym alantolaktonu, spilantolu, kwasu grindeliowego), które mogły być potencjalnie odpowiedzialne za zaobserwowane dla wyciągów efekty. Te wyniki są w pełni nowatorskie, a

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 (12) 620 55 60

fax +48 (12) 620 55 75

farmakog@cm-uj.krakow.pl

www.farmacja.cm-uj.krakow.pl

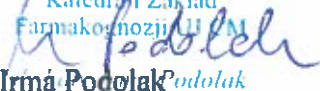
wysoka aktywność wykazana na szerokim panelu badań *in vitro* dla jednego z nich, tj. laktonu seskwiterpenowego – eupatoriopikryny, daje podstawy do wytypowania tego związku jako struktury wiodącej i kontynuacji badań w warunkach *in vivo*.

Na wyróżnienie zasługuje umiejętność planowania eksperymentu, wnikliwej interpretacji wyników i związanej z tym modyfikacji zakresu badań, oraz klarowność dyskusji. Zwraca uwagę również wysoki poziom przeprowadzonych badań biologicznych oraz biegłość Doktorantki w korzystaniu z różnych metod, m.in. cytometrii przepływowej.

Chciałabym ponadto podkreślić, że uzyskane wyniki prezentowano w pięciu doniesieniach na konferencjach międzynarodowych, stanowią one też przedmiot trzech artykułów oryginalnych, z których w dwóch pani mgr Gierlikowska jest pierwszym autorem. Wszystkie publikacje ukazały się w renomowanych czasopismach z bazy JCR, jak *Journal of Ethnopharmacology*, *Journal of Natural Products* czy *Journal of Supercritical Fluids*, o bardzo wysokim łącznym współczynniku oddziaływania *impact factor* wynoszącym 11,152 (275 punktów MNiSW).

Jako recenzent, z pełną odpowiedzialnością stwierdzam, że całokształt prac badawczych wykonanych przez panią mgr Barbarę Gierlikowską wyraźnie przewyższa przeciętne wymagania stawiane pracom doktorskim w zakresie nauk farmaceutycznych.

Kraków, 5 listopada 2020

Katedra i Zakład  
Farmakologii i M  
  
Irmá Podolak Podolak  
p.o. Kierownik