



dr hab. n. farm. Katarzyna Dos Santos Szewczyk

UNIwersytet Medyczny w Lublinie

Zakład Botaniki Farmaceutycznej

ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin, tel. (81) 81448 7060, fax (81) 81448 7060

Lublin, 25.03.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. inż. Dominika Popowskiego pt. „Badania chromatograficzne (UHPLC-DAD-MSn), izolacja oraz badanie metabolizmu przez mikrobiotę jelitową składników wyciągów przygotowanych z wybranych surowców roślinnych stosowanych tradycyjnie w schorzeniach dróg moczowych”.

Uwagi ogólne

Na przedłożoną do oceny rozprawę doktorską Pana mgr. inż. Dominika Popowskiego składa się liczący 85 stron tekst, stanowiący przedstawienie sylwetki Doktoranta, opracowanie teoretyczne podjętego tematu (w tym cel pracy, komentarze do publikacji wraz z wnioskami, streszczenie i obszernie piśmiennictwo), a także kopie trzech spójnych z nim publikacji, które ukazały się w latach 2019-2021. Prace te są wieloautorskie, czego wymagały szeroko zakrojone badania podjęte przez Doktoranta, jednak we wszystkich Pan mgr inż. jest pierwszym autorem. Ponadto, dołączone do rozprawy oświadczenia współautorów potwierdzają Jego wiodącą rolę w koncepcji i przeprowadzeniu badań ujętych w przedłożonym cyklu prac. Czasopisma, w których Doktorant opublikował wyniki wchodzące w skład dysertacji, tj. *Journal of Ethnopharmacology* (2 publikacje) i *Phytochemistry Letters* (1 publikacja), znajdują się w wykazie *Journal Citation Reports (JCR)*, a ich łączny współczynnik oddziaływania *Impact Factor* to 10,399.

Badania stanowiące podstawę publikacji wchodzących w cykl dysertacji zostały wykonane w Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierownictwem naukowym Promotora, Pana prof. dr. hab. Sebastiana Granicy, a także częściowo w Institute für Tierernährung, Freie Universität Berlin (Berlin, Niemcy) oraz Institute für Pharmazie, Freie Universität Berlin (Berlin, Niemcy). Prowadzone przez Doktoranta badania były finansowane ze środków uzyskanych w ramach programu Narodowego Centrum Nauki OPUS 15, projekt nr 2018/29/B/NZ7/01873; „Czy związki pochodzenia naturalnego

wspomagają leczenie zakażeń układu moczowego?”. Część badań finansowana była z grantu Młodego Naukowca Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego nr FW25/PM4/18; „Badania fitochemiczne oraz metabolizm substancji zawartych w naparze z ziela nawłoci pospolitej (*Solidago virgaurea* L.) pod wpływem mikrobioty jelitowej.”, a także ze środków statutowych Katedry Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Badania opisane w pracy, mgr inż. Dominik Popowski wykonał we współpracy z Centrum Badań Przedklinicznych CBP (w ramach Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii (CePT)) Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Fachgebiets Pharmazeutische Biologie Institute für Pharmazie Freie Universität Berlin (Berlin, Niemcy) oraz Institute für Tierernährung Fachbereich Veterinärmedizin Freie Universität Berlin (Berlin, Niemcy).

Głównymi kierunkami zawartych w pracy doktorskiej zainteresowań badawczych Pana mgr. inż. Dominika Popowskiego było otrzymanie, filtracja i liofilizacja naparów wodnych z wybranych substancji roślinnych, takich jak *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Solidago virgaurea* L., *Phaseolus vulgaris* L., analiza UHPLC-DAD-MSn i opis składników otrzymanych ekstraktów, inkubacja ekstraktów z mikrobiotą jelitową człowieka w warunkach beztlenowych, określenie dynamiki biotransformacji i głównych metabolitów, opracowanie metody izolacji pochodnych galoilowanych flawonoidów obecnych w kwiecie wiązówki przy użyciu mikrobioty jelitowej człowieka, określenie struktury pochodnych galoilowanych wraz z analizą grup cukrowych, opis biotransformacji poszczególnych składników ekstraktu z ziela nawłoci i powstałych metabolitów, porównanie biodostępności składników ekstraktu z ziela nawłoci i ich metabolitów na podstawie przenikalności przez monowarstwy komórek modelu nabłonka jelita Caco-2, opisanie profilu fitochemicznego i dokładne opisanie frakcji saponinowej zawartej w ekstrakcie etanolowym z owocni fasoli, a także określenie biodostępności składników ekstraktu etanolowego z owocni fasoli na podstawie przenikalności przez monowarstwy komórek nabłonka jelita Caco-2.

W części teoretycznej, Doktorant zapoznaje czytelnika z zarysem historycznym fitoterapii układu moczowego, problemem antybiotykoterapii zakażeń układu moczowego, aktywnością biologiczną substancji roślinnych stosowanych w schorzeniach układu moczowego, a także biotransformacji składników substancji roślinnych pod wpływem mikrobioty jelitowej. Wybór zacytowanych pozycji literaturowych (216 pozycji z lat 1965-2021), jak również sposób ujęcia omawianych treści, wraz z uwypukleniem niejasności i niespójności wyników literaturowych oraz ich wnikliwa dyskusja, świadczą o bardzo dobrej orientacji Doktoranta w omawianych zagadnieniach.

Praca jest dobrze napisana i zilustrowana tabelami i rysunkami, co w znaczący sposób ułatwia lekturę dysertacji. Dodatkowym walorem jest umieszczenie zwięzłego streszczenia w

języku polskim i angielskim. W mojej opinii, umieszczone przez Doktoranta w rozprawie doktorskiej opracowanie, w sposób wyczerpujący traktuje założony problem badawczy, uzupełniając i scalając treści ujęte w cyklu trzech zawartych w niej opublikowanych manuskryptów.

Ocena merytoryczna

Zakażenia układu moczowego należą do najczęstszych, przewlekłych i nawracających chorób o podłożu bakteryjnym. Światowa wartość rynku leczenia zakażeń układu moczowego wzrasta corocznie, co wiąże się przede wszystkim z występowaniem uropatogenów antybiotykoopornych, nieskuteczności leczenia w wyniku braku możliwości dopasowania terapii w oparciu o wyniki analiz mikrobiologicznych, a także z nawracaniem infekcji. Stale wzrastająca liczba szczepów wielolekoopornych, ogranicza możliwości zastosowania wielu dostępnych obecnie chemioterapeutyków. Dlatego też istotnym wydaje się poszukiwanie nowych źródeł związków o właściwościach leczniczych oraz metod ich pozyskiwania.

Założenia przedstawionej do oceny pracy doktorskiej zawierają weryfikację hipotezy, że substancje roślinne stosowane tradycyjnie w schorzeniach układu moczowego posiadają zróżnicowany skład chemiczny, a substancje w nich zawarte ulegają biotransformacji w wyniku działania mikrobioty jelitowej. Głównym celem pracy było scharakteryzowanie pod względem fitochemicznym wybranych ekstraktów roślinnych oraz określenie zmian w składzie chemicznym po inkubacji z mikrobiotą jelitową człowieka mogących wpływać na biodostępność i aktywność. Weryfikacja hipotezy i wyniki otrzymane przez Doktoranta to oryginalne i nowatorskie osiągnięcie naukowe. Najważniejsze i najcenniejsze jest opisanie dynamiki procesu biotransformacji i produktów metabolizmu ekstraktu wodnego z kwiatu *Filipendula ulmaria*, powstałych po inkubacji z mikrobiotą jelitową człowieka *ex vivo*, opracowanie metody inkubacji w powiększonej skali pozwalającej na oczyszczenie mieszaniny z prostych pochodnych flawonoidowych i ułatwiającej izolację pochodnych galoilowanych przy użyciu cieczonej chromatografii preparatywnej; a także izolacja z mieszaniny poinkubacyjnej trzech galoilowanych pochodnych flawonoidowych (D1 – 3-O-β-(2''-O-galoilo)-D-galaktopiranozyd kwercetyny; D1 – 3-O-β-(2''-O-galoilo)-D-glukopiranozyd kwercetyny; D3 – 3-O-β-(2''-O-galoilo)-D-glukopiranozyd kemferolu); określenie jakie metabolity powstają w procesie biotransformacji składników ekstraktu wodnego z zieleń *Solidago virgaurea* L., porównanie wyników inkubacji otrzymanych z wykorzystaniem mikrobioty jelitowej człowieka i świni, wstępne porównanie biodostępności substratów i produktów metabolizmu (na modelu Caco-2), jak również określenie działania przeciwwzapalnego ekstraktu; wykazanie, że przez nabłonek jelita *in vitro*, oprócz

flawonoidów zawartych w owocni fasoli, przenikają sojasaponiny, co może świadczyć o częściowej biodostępności tych związków jeszcze przed etapem hydrolizy, zachodzącej w jelicie grubym, a także stwierdzenie, że potencjał terapeutyczny owocni fasoli może wiązać się nie tylko z działaniem diuretycznym, ale również antyadhezyjnym, co potwierdzono badaniami z użyciem modelu nabłonka pęcherza T24 i uropatogennej *Escherichia coli*.

Całokształt wyników ujętych w przedstawionej do oceny dysertacji jednoznacznie dowodzi, że przedsięwzięcie badawcze, jakiemu stawił czoła Doktorant, zakończyło się dużym sukcesem. Ma to wyraz nie tylko w serii powstałych publikacji, ale przede wszystkim we wskazaniu jakie metabolity mogą być przedmiotem dalszych prac izolacyjnych i przedklinicznych. Ponadto, opublikowane przez Doktoranta wyniki stanowią podstawę pod nowe projekty aplikacyjne, mające na celu upowszechnienie stosowania substancji roślinnych jako środków wspomagających antybiotykoterapię zakażeń układu moczowego w oparciu o właściwości potwierdzone badaniami.

Reasumując, zarówno pod względem merytorycznym, jak i graficznym praca spełnia wszelkie wymagania stawiane doktoratom z zakresu nauk farmaceutycznych, a zawarta w niej treść świadczy o poziomie wiedzy i umiejętności Pana mgr. inż. Dominika Popowskiego, w pełni kwalifikującym ją do ubiegania się o stopień doktora.

Czytając przedłożoną do oceny pracę doktorską, natknęłam się na kilka drobnych uchybień redakcyjnych, które jednak nie wpływają na moją wysoce pozytywną opinię na temat niniejszej pracy doktorskiej.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska Pana mgr. inż. Dominika Popowskiego składa się z trzech prac naukowych opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej, a ich sumaryczny współczynnik oddziaływania IF wynosi 7.486. Osiągnięcie jako całość można określić jako nowatorskie i interdyscyplinarne, a tym samym świadczące o dużej dojrzałości naukowej Doktoranta.

Wysoko oceniam przedłożoną do oceny rozprawę doktorską i stwierdzam, że spełnia ona wszystkie wymogi zarówno merytoryczne jak i formalne wynikające z ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie z wnioskiem o dopuszczenie Pana magistra inżyniera Dominika Popowskiego do dalszych etapów postępowania w ubieganiu się o

stopień naukowy doktora, a następnie przyznanie Jemu rzeczono stopnia. Równocześnie, ze względu na wysoki poziom rozprawy, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie opiniowanej pracy.

dr hab. n. farm. Katarzyna Dos Santos Szewczyk, prof. UM

