



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Zakład Farmakoterapii Dermatologicznej
Katedry Chorób Skórnych i Wenerycznych PUM

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Michaliny Adaszyńskiej-Skwirzyńskiej

pt. „Substancje biologicznie aktywne z nowych odmian ziół i ich zastosowanie w technologii kosmetyków i leków”

wykonanej w Zakładzie Syntezy Organicznej i Technologii Leków Instytutu Technologii Chemicznej Organicznej Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Promotorami dysertacji były: prof. dr hab. inż. Maria Swarczewicz i dr hab. inż. Halina Kwiecień, prof. ZUT

Rozwój współczesnej medycyny opartej na syntetycznych farmaceutykach spowodował, że przez wiele lat zastosowanie surowców naturalnych w terapii było odsuwane na dalszy plan. Nowoczesna medycyna, oparta na najnowszych badaniach i odkryciach, odgrywa bardzo istotną rolę w leczeniu różnych schorzeń prowadząc do poprawy stanu zdrowia i przedłużenia życia ludzi. Nie jest ona jednak jedyną metodą, bowiem zawsze istniały i będą istnieć inne, alternatywne sposoby postępowania, które mogą prowadzić do korzystnych efektów terapeutycznych lub wspomagania procesu tradycyjnego leczenia. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania preparatami pochodzenia naturalnego, zwłaszcza obecnością w ich składzie substancji aktywnych odpowiedzialnych za działanie wywierane przez poszczególne rośliny. Ich skuteczność będzie zależeć zarówno od składu jakościowego, jak i ilościowego określonych surowców zielarskich. W czasach współczesnych, dzięki rozwojowi metod analitycznych, możliwe jest dokładne ustalenie zawartości istotnych substancji czynnych, tym samym ocena możliwości praktycznego wykorzystania określonych roślin.

Jednym z popularnych ziół jest lawenda wąskolistna *Lavandula angustifolia* Mill. , nazywana także lawendą lekarską, prawdziwą lub zwyczajną. Choć rodzaj *Lavandula*, wchodzący w skład rodziny jasnotowatych (*Lamiaceae*), obejmuje ponad czterdzieści gatunków oraz liczne podgatunki i odmiany, to właśnie lawenda lekarska należy do bardzo często uprawianych rośliny olejkowych,

które znalazły zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym oraz kosmetycznym. Przypadkowe odkrycie w 1910 roku korzystnego działania olejku lawendowego dokonane przez francuskiego chemika R. M. Gattefossé'a było jednym z czynników, które przyczyniły się do rozwoju współczesnej aromaterapii

Lawenda lekarska zawiera szereg substancji chemicznych, z których tylko niektóre cechują się działaniem biologicznym. Aby taka aktywność była obserwowana, istotne jest stężenie odpowiednich substancji czynnych zawartych w różnych odmianach surowca farmakognostycznego. Należy dodać, że pomimo szerokiego zainteresowania lawendą lekarską, czego dowodem jest wzrastająca liczba prac na ten temat, niewiele uwagi poświęca się jej odmianom. Ponadto, głównym zainteresowaniem badaczy cieszą się kwiaty lawendy jako główne źródło pozyskiwania olejków eterycznych, niewiele uwagi poświęcono możliwościom wykorzystania innych jej części. Zatem podjęcie przez Autorkę badań dotyczących porównania zawartości i właściwości kwiatów oraz ulistnionych łodyg różnych odmian lawendy lekarskiej należy uznać za celowe i oryginalne.

Przedstawiona do oceny rozprawa cechuje się starannością edytorską. Ma klasyczną konstrukcję, jest napisana w sposób przejrzysty, poprawnym językiem. Liczy ogółem 232 strony, dodatkowo na 8 stronach zamieszczony jest dorobek naukowy Doktorantki (w przypadku pozycji 7 podano błędny tytuł publikacji). Zawiera 48 przejrzyste sporządzonych tabel oraz 74 starannie wykonane rysunki, co stanowi bardzo dobrą dokumentację. Zamieszczone tabele i rysunki trafnie ilustrują omawiane zagadnienia. Rozprawa składa się z następujących rozdziałów: Zestawienie zastosowanych akronimów, oznaczeń i symboli, Wprowadzenie i cel pracy, Część literaturowa, Część badawcza – Materiał i Metodyka, Wyniki i ich omówienie, Wnioski końcowe, Bibliografia, Streszczenie (w języku polskim i angielskim), Spis tabel i rysunków oraz Załączniki. Dołączony na początku spis zastosowanych oznaczeń oraz zamieszczony na końcu spis tabel i rysunków bardzo ułatwia znalezienie odpowiedniego materiału. Niestety, w Spisie zastosowanych oznaczeń pojawiło się kilka nieścisłości, np. błędnie opisano angielski termin leków OTC (powinno być over the counter), czy też RSD (relative standard deviation)

Cele badań, jakie wyznaczyła sobie Doktorantka, zostały sformułowane jasno i syntetycznie, zaś ich realizacja jest logiczna. Przyjęte przez Autorkę przesłanki metodyczne, w oparciu o dane z piśmiennictwa, świadczą o zmyśle praktycznym.

Celem pracy było:

- porównanie zawartości substancji biologicznie aktywnych w kwiatach i ulistnionych łodygach dwóch odmian lawendy lekarskiej pochodzącej z doświadczalnej uprawy Katedry Ogrodnictwa ZUT

oraz w kwiatach handlowego surowca zielarskiego (Zakłady Zielarskie Kawon, Gostyń) z uwzględnieniem olejków eterycznych, kwasów fenolowych, związków flawonoidowych, garbników, kwasów seskwiterpenowych i biopierwiastków

- porównanie dwóch metod izolacji olejków eterycznych (aparatus Derynga i Clevengera) oraz różnych metod ekstrakcji surowca (maceracja i maceracja wspomaganą wytrząsaniem, sonifikacja, ekstrakcja w aparacie Soxhleta) na przykładzie lawendowych ekstraktów etanolowych

- ocena aktywności przeciwutleniającej olejków eterycznych, naparów i odwarów lawendowych

- porównanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych wyizolowanych z kwiatów oraz ulistnionych łodyg lawendy na komórki wzorcowych szczepów bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus*), Gram-ujemnych (*P. aeruginosa*) oraz na komórki drożdżoidalnego grzyba (*C. albicans*), a także na kliniczne, metycylinooporne szczepy *S. aureus*

- zbadanie oddziaływania wyizolowanych olejków eterycznych, a także jednego z ich głównych składników – linalolu – oraz parabenów z chemioterapeutykami (gentamycyna, flukonazol) na badane szczepy drobnoustrojów

- próba zastosowania wybranych olejków do konserwacji emulsji i maści kosmetycznych oraz porównanie ich z syntetycznymi środkami konserwującymi

W Części teoretycznej Doktorantka, wykazując się bardzo dobrą znajomością przedmiotu, dokonała, popartego najnowszymi pozycjami piśmiennictwa polskiego i obcego, przeglądu wiedzy dotyczącej lawendy wąskolistnej obejmującego charakterystykę rośliny, skład fitochemiczny surowca oraz zastosowanie i aktywność biologiczną lawendy. Na zakończenie rozdziału Autorka przedstawiła znaczenie surowców roślinnych w technologii zarówno produktów kosmetycznych, jak i leczniczych. Tak przygotowana część teoretyczna zachęca do zainteresowania się uzyskanymi wynikami badań. Niestety, Autorka nie ustrzegła się, zapewne w porę niezauważonych, drobnych błędów literowych – niewłaściwe nazwy łacińskie niektórych bakterii (str. 36) czy też błąd w nazwie jednego z kwasów (str. 34). Na str. 44 w odniesieniu do sformułowania „olejek i szampon... były stosowane w terapii nastolatków” – należy dodać w leczeniu jakiego schorzenia. Również na stronie 48 należy zmienić użyty zwrot dotyczący poprawy przenikania transdermalnego, bowiem ten schemat podania stosuje się w celu wprowadzenia substancji leczniczej nie tylko do głębszych warstw skóry, ale także do krążenia ogólnego (np. transdermalne systemy terapeutyczne). Te drobne błędy nie wpływają jednak na ciekawy, przystępny i zrozumiały sposób przedstawienia omawianych zagadnień.

Wyniki badań fitochemicznych przedstawionych przez Autorkę dotyczyły dwóch odmian lawendy lekarskiej pochodzących z doświadczalnej uprawy Katedry Ogrodnictwa ZUT: Blue River oraz Ellagance Purple – wykorzystano zarówno kwiaty, jak i ulistnione łodygi. Odmiany te porównano z lawendą lekarską nieznaną odmianą pochodzącą z Zakładów Zielarskich Kawon (Gostyń). Do oceny

wspomnianych w celu badania parametrów wykorzystano zarówno klasyczne, jak i nowoczesne metody spektroskopowe, w tym atomową spektroskopię absorpcyjną (AAS), fotometrię płomieniową i spektroskopię UV-Vis oraz metody chromatograficzne obejmujące wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC), ultrasprawną chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (UPLC-ESI/MS/MS) oraz chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC/MS). Zastosowana do oznaczeń aktywności antyoksydacyjnej olejków eterycznych, odwarów i naparów metoda spektrofotometryczna z użyciem stabilnego rodnika DPPH jest powszechnie stosowana w tego typu oznaczeniach i jest jedną z najszerzej wykorzystywanych metod. W przypadku analizy zawartości garbników korzysta się z odczynnika Folin-Ciocalteu. Analiza statystyczna wyników również nie budzi zastrzeżeń, bowiem zastosowane testy są odpowiednie dla potwierdzenia wiarygodności uzyskanych rezultatów. Drobną zastrzeżenie, które można mieć do opisu metod to brak w niektórych przypadkach dokładniejszych danych, np. w opisie zamieszczono informację, że po dodaniu odczynników uzupełniono zawartość określonym roztworem, ale bez podania objętości tego roztworu bądź końcowej objętości uzyskanego roztworu.

W wyniku przeprowadzonych analiz Autorka stwierdziła, że skład chemiczny badanego gatunku zależał od odmiany i części anatomicznej rośliny – różnice w zawartości olejku były istotne statystycznie, podobnie jak pomiędzy latami zbioru roślin. Zastosowanie aparatu Derynga pozwoliło na uzyskanie większej zawartości olejku w porównaniu z aparatem Clevengera, natomiast nie miał on wpływu na skład jakościowy olejku eterycznego. Autorka stwierdziła, że olejki eteryczne z poszczególnych odmian cechują się zawartością tych samych składników głównych (m.in. linalolu, octanu linalolu, octanu lawandulolu, borneolu), różnią się natomiast zawartością związków o niskim stężeniu, które jednak mogą wpływać na właściwości olejków eterycznych. Doktorantka dokonała również oceny zawartości poszczególnych grup oraz poszczególnych związków w badanych próbkach.

Jeżeli chodzi o technikę ekstrakcji, to stwierdzono, że wydajność tych procesów rośnie w kolejności maceracja < sonifikacja < ekstrakcja w aparacie Soxhleta, przy czym także czas ekstrakcji miał wpływ na jej wydajność.

Badanie aktywności przeciwutleniającej wykazało, że olejki eteryczne i odwary cechowały się silniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi w porównaniu do naparów, zaś spośród przebadanych surowców najsilniejszą zdolność dezaktywacji rodnika DPPH stwierdzono w przypadku olejku eterycznego i odwaru z kwiatów lawendy handlowej (Kawon).

Również skuteczność działania hamującego wzrost drobnoustrojów była zależna od odmiany i części morfologicznej rośliny, z której został wyizolowany. Ciekawą obserwacją jest stwierdzenie, że w przeciwieństwie do dotychczasowych poglądów, aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejku

lawendowego nie jest wyłącznie związana z obecnością linalolu. Według Autorki być może przyczyną tej aktywności jest obecność α -santalenu, zidentyfikowanego w olejku eterycznym z kwiatów odmiany Blue River, który wykazywał najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową.

Kolejnym ważnym rezultatem przeprowadzonych badań było stwierdzenie, że dodatek 2% olejku eterycznego z kwiatów Blue River do emulsji kosmetycznej, podobnie jak dodatek 0,5% olejku z kwiatów Ellagance Purple jako konserwantów można wykorzystać zamiast syntetycznych konserwantów w celu zapewnienia ich czystości mikrobiologicznej.

Należy również wysoko ocenić przedstawione w pracy omówienie wyników. Obejmuje ono prawidłowo i na odpowiednim poziomie odniesienie się do uzyskanych wyników w porównaniu z danymi literaturowymi. Autorka zakończyła je 17 dość szczegółowymi wnioskami końcowymi. W mojej opinii mogłyby one zostać przedstawione bardziej syntetycznie.

Właściwy dobór nowoczesnych metod badawczych, przeprowadzona analiza statystyczna, przejrzysta oraz czytelna ilustracja graficzna i tabelaryczna podnoszą wartość uzyskanych wyników. Świadczą one także o odpowiednim przygotowaniu Doktorantki oraz o opanowaniu warsztatu badawczego.

Cytowane piśmiennictwo liczy 204 pozycje, w zdecydowanej większości anglojęzyczne. Blisko 60% pochodzi z okresu od 2010 roku, co świadczy o nowoczesności podjętego zagadnienia. Doktorantka wykazała się umiejętnością korzystania z literatury przedmiotu właściwie cytując odpowiednie pozycje, zarówno we Wprowadzeniu jak i w Dyskusji. Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na pewne uchybienia. Poz. 46 – poprawne nazwisko autorki to Draelos Z.E., podobnie w pozycji 87- trzecim redaktorem wydania jest prof. M. Sznitowska. W poz. 63 – poprawna nazwa wydawcy to Oficyna Wydawnicza MA, Łódź.

Nawiązując do streszczenia należy skorygować jego wersję angielską w odniesieniu do wersji polskiej, jak również poprawić terminologię (str. 207)

Wszystkie powyższe uwagi, będące zapewne w większości w porę niedostrzeżonymi błędami edytorskim, w niczym nie umniejszają wysokiej oceny pracy doktorskiej. Dlatego też stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska mgr inż. Michaliny Adaszyńskiej-Skwirzyńskiej wykonana w Zakładzie Syntezy Organicznej i Technologii Leków pod kierunkiem Pani prof. dr hab. inż. Marii Swarcewicz oraz dr hab. inż. Haliny Kwiecień, prof. ZUT, stanowi samodzielny dorobek naukowy. Wskazuje na wysoki stopień dociekliwości naukowej Autorki oraz na umiejętność posługiwania się warsztatem badawczym, stosownie do założeń pracy. Spełnia zatem wymagania zawarte w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w

dziejdzinie sztuki. W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie wniosek o przyjęcie ocenionej pracy i o dopuszczenie mgr inż. Michaliny Adaszyńskiej-Skwierzyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, dn. 30.12.2015

KIEROWNIK
Zakładu
Farmakoterapii Dermatologicznej
Adam Klimowicz
prof. dr hab. n. med. Adam Klimowicz