



Zakład Chemii Produktów Pochodzenia Naturalnego
Katedra Farmakognozji i Botaniki Farmaceutycznej
UNIwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 1, 20-093 LUBLIN
tel. +48 81448 7080 e-mail: kskalicka@pharmacognosy.org

Lublin, 26.05.2022 r.

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora mgr Katarzyny Jakimiuk zatytułowanej „*Charakterystyka fitochemiczna oraz ocena aktywności biologicznej części nadziemnych wybranych gatunków z rodzaju Scleranthus L.*”. Praca wykonana została w Zakładzie Farmakognozji Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, pod kierunkiem dra hab. Michała Tomczyka.

Według raportów State of the World's Plants publikowanych przez Royal Botanical Garden Kew wynika, iż każdego roku na świecie identyfikowanych jest około 2000 nowych gatunków roślin. Są one klasyfikowane pod względem przynależności systematycznej, jednak ich skład fitochemiczny, jak i potencjalne właściwości biologiczne nie są poznane. Dokładnie zaplanowane kompleksowe badania nad gatunkami słabo poznanymi pozwalają bardzo często na izolację nieznanych dotąd związków, nowych struktur o dużym potencjale leczniczym, ale też jednocześnie okazać się mogą istotnym markerem chemotaksonomicznym, pozwalającym na określenie przynależności gatunków w obrębie rodzaju czy nawet rodziny.

W swoich badaniach Pani mgr Katarzyna Jakimiuk zainteresowała się rodzajem czerwiec - *Scleranthus L.* (rodzina Caryophyllaceae). Szczególną uwagę Doktorantka zwróciła na dwa gatunki *Scleranthus perennis* (czerwiec trwały) oraz *Scleranthus annuus* (czerwiec roczny), które to nie zostały dotychczas szczegółowo zbadane ani pod względem fitochemicznym, jak i pod kątem ich potencjalnej aktywności biologicznej. Dlatego też za nadrzędny cel pracy Autorka postawiła sobie przeprowadzenie szczegółowej charakterystyki składu chemicznego nadziemnych części obu gatunków, wraz z oceną wybranych aktywności biologicznych.

W skład recenzowanej pracy doktorskiej wchodzi pięć publikacji, w których Doktorantka jest pierwszym autorem – trzy prace oryginalne, opublikowane w specjalistycznych czasopismach z listy JCR, oraz dwa artykuły o charakterze przeglądowym. Sumaryczny IF (ISI Journal Citation Reports) cyklu jest równy **24.30**, zaś punktacja MNiSW wynosi **660**. Są to następujące pozycje:

1) Jakimiuk K, Strawa JW, Granica S, Tomczyk M. New flavone C-glycosides from *Scleranthus perennis* and their anti-collagenase activity. *Molecules*, **2021**, 26, 5631 (IF2020 = 4.412; MEiN = 140 pkt.)

2) Jakimiuk K, Strawa JW, Granica S, Locatelli M, Tartaglia A, Tomczyk M. Determination of flavonoids in selected *Scleranthus* species and their anti-collagenase and antioxidant potential. *Molecules*, **2022**, 27, 2015, 17 (IF2020 = 4.412; MEiN = 140)

3) Jakimiuk K, Suat S, Milewski R, Supuran CT, Sohretoglu D, Tomczyk M. Flavonoids as tyrosinase inhibitors in *in silico* and *in vitro* models: basic framework of SAR using a statistical modeling approach. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **2022**, 37, 427-436 (IF2020 = 5.051; MEiN = 140 pk)

4) Jakimiuk K, Gesek J, Atanasov AG, Tomczyk M. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2021**, 36, 1016-1028 (IF2020 = 5.051; MEiN = 140 pkt)

5) Jakimiuk K, Wink M, Tomczyk M. Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochemistry Reviews*, **2022**, 21, 179-218 (IF2020 = 5.374; MEiN = 100 pkt).

Praca doktorska ma układ typowy dla tego rodzaju opracowań. Rozprawa przygotowana jest starannie, napisana jest precyzyjnym, przystępnym językiem. Wszystko razem stanowi spójną całość.

Po przedstawieniu publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej (Rozdział 1), Doktorantka przechodzi do wstępu, który ma być wprowadzeniem i przeglądem literatury dotyczącej tematu pracy (Rozdział 2). W tym miejscu brakuje nieco dokładnego wyjaśnienia – dlaczego ten rodzaj wydał się szczególnie interesujący? Dlaczego analiza akurat tych wybranych gatunków czerwca „stanowi istotny wkład w określenie chemotaksonomii roślin z rodzaju *Scleranthus* oraz rodziny botanicznej *Caryophyllaceae*”? Co pozwoliło przypuszczać, iż właśnie te wybrane rośliny „mogą okazać się być cennymi roślinnymi surowcami leczniczym do dalszych badań nad potencjalnym wykorzystaniem w fitoterapii jako bogatych źródeł związków o charakterze polifenolowym w szczególności połączeń flawonoidowych”?

W kolejnym rozdziale mgr Jakimiuk jasno i szczegółowo zarysowuje cel pracy. Brakuje tutaj jednak uzasadnienia podjętej tematyki badawczej – jak zasugerowano w samym tytule Rozdziału 3.

Najobszerniejszy, a zarazem najważniejszy jest Rozdział 4, stanowiący omówienie materiałów i metod badawczych, przedstawienie otrzymanych wyników badań wraz z podsumowaniem i dyskusją. Pracę zwięźcza jednostronicowy Rozdział 5 „Osiągnięte wyniki i wnioski”. Całość przedstawionej dysertacji poparta jest bibliografią liczącą 48 pozycji. Piśmiennictwo jest dobrane odpowiednio, w przeważającej części są to pozycje pochodzące z ostatnich lat. Jest to głównie literatura fachowa, anglojęzyczna, publikowana w znanych, liczących się czasopismach. Do pracy dołączono streszczenia w języku polskim i angielskim (Rozdział 7 i 8).

Mgr Katarzyna Jakimiuk dołączyła kopie wszystkich artykułów oraz oświadczenia współautorów. Doktorantka przedstawiła także krótko swój dorobek naukowy, co pozwala zapoznać się z Jej sylwetką młodego, ale doświadczonego badacza. Zwrócić uwagę należy, iż całkowity dorobek mgr Jakimiuk to dziesięć publikacji o sumarycznym IF=44,286 punktów. Realizowała ona kilka projektów badawczych finansowanych z subwencji UM (jedno kierownictwo oraz trzy wykonawstwa). Odbyla także trzy bardzo wartościowe staże naukowe.

Po przeanalizowaniu dołączonych publikacji oraz przeczytaniu opracowania stwierdzam, iż mgr Katarzyna Jakimiuk zrealizowała postawione przed sobą cele. W ramach zaplanowanych badań przeprowadziła:

- pełną charakterystykę wraz z analizą ilościową związków flawonoidowych w ekstraktach oraz frakcjach obu gatunków *S. perennis* i *S. annuus*, bazując na opracowanej przez siebie nowej metodzie analitycznej LC-MS,

- wyizolowała w postaci czystej dziewięć związków, podając jednocześnie pełną charakterystykę ich struktur. W tym miejscu podkreślić należy, iż cztery z nich tj. sklerantozyd A, B, C, D, zostały zidentyfikowane i opisane po raz pierwszy. Pozostałe wyizolowane substancje stanowić mogą istotny wskaźnik chemofenetyczny całego rodzaju *Scleranthus*,

- dla ekstraktów i frakcji przeprowadziła ocenę działania hamującego aktywność kolagenazy oraz określiła potencjał antyoksydacyjny z zastosowaniem testów DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC,

- dla czterdziestu czterech połączeń flawonoidowych, w tym czterech wyizolowanych przez siebie, przeprowadziła bardzo dokładne badania aktywności inhibicyjnej przeciwko tyrozinazie grzybowej wraz z kinetyką reakcji, skupiając się jednocześnie na analizie zależności budowa-aktywność (SAR) w modelu *in silico*. Ponadto Doktorantka zastosowała model statystyczny. Tak kompleksowe podejście pozwoliło Jej po raz pierwszy określić cechy struktur flawonoidowych, które ułatwiają hamowanie tyrozinazy jak na przykład: obecność grup hydroksylowych w pozycji C3 i C7, wykazując przy tym, iż ich glikozylacja, metylacja i acetylacja powoduje zmniejszenie aktywności. Obserwacje te są bardzo ważne i pozwalają na ukierunkowane poszukiwanie związków aktywnych, czy to w świecie roślin, czy też poprzez odpowiednio planowane syntezy. Dodatkowo przeprowadzone badania kinetyczne związków o najsilniejszej aktywności doprowadziły do określenia po raz pierwszy niekompetencyjnego typu inhibicji dwóch rzadkich w świecie roślinnym flawonoidów, izookaniny i robinetyny.

W toku prowadzonych przez siebie badań Doktorantka wykorzystwała szereg technik chromatograficznych, spektralnych czy spektrofotometrycznych takich jak np. chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrią mas, preparatywna wysokosprawna chromatografia cieczowa (LC-DAD), IR, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego 1D NMR: 1H, 13C oraz 2D NMR: COSY, HMBC, HSQC. Świadczy to o wszechstronności Doktorantki i dobrej znajomości tematyki oraz o obyciu i doświadczeniu w pracy laboratoryjnej.

Cykl prac składających się na ocenianą rozprawę domykają dwie prace przeglądowe, w których Autorka dyskutuje dotychczasowe badania dotyczące wykorzystania związków flawonoidowych jako inhibitorów ludzkiej elastazy neutrofilowej (*Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2021) oraz omawia związki flawonoidowe scharakteryzowane w gatunkach roślin z rodziny Caryophyllaceae (*Phytochemistry Reviews* 2022).

W pracach wchodzących w skład recenzowanego cyklu Doktorantka jest wiodącym wykonawcą. Każdorazowo brała udział we współpracowaniu koncepcji i planu pracy, zaangażowana była w każdy z etapów eksperymentów, samodzielnie wykonała większość badań.

W trakcie dokładnej analizy pracy dopatrzyć się można pewnych nieścisłości np. nakreślając cel pracy Autorka pisze „*Celem naukowym pracy doktorskiej była szczegółowa charakterystyka składu chemicznego nadziemnych części wybranych gatunków z rodzaju czerwiec Scleranthus L., w tym S. perennis i S. annuus*” – kiedy to tylko te dwa gatunki były badane. W trakcie lektury pojawia się kilka niezrozumiałych sformułowań jak np. „*Dzięki wielokierunkowym badaniom nad składem chemicznym opisywanych roślin, ocena zawartości związków flawonoidowych została wykonana metodą HPLC*”.

W przygotowanym opracowaniu Doktorantka bardzo dużo uwagi poświęciła na opisanie izolacji oraz charakterystyki struktur dziewięciu związków C-glikozydów flawonoidowych, co można było pominąć, gdyż przedstawiono to dokładnie w opublikowanych pracach. Nigdzie natomiast nie znalazłam informacji na temat czystości tych związków, co jest niezwykle istotne, gdyż przekazane zostały one do dalszych badań mających na celu określenie ich aktywności biologicznych. Bez wątpienia jednak podkreślić należy, iż Doktorantka jest specjalistką w zakresie identyfikacji polifenoli. Świadczy o tym sposób prowadzonych analiz struktur. Poza izolowanymi dziewięcioma związkami, stosując techniki LC-MS, w ramach poszukiwania markerów chmotaksonomicznych, opisała także dwadzieścia cztery związki o charakterze pochodnych flawonoidowych oraz kwasów fenolowych.

Podsumowując stwierdzam, że cele pracy zostały zrealizowane, a osiągnięte oryginalne wyniki mają charakter poznawczy i stanowią istotny wkład w rozwój dziedziny. Przedstawiony do oceny cykl prac jest spójny, badania własne Doktorantka zaplanowała dobrze i konsekwentnie zrealizowała. Wysoką wartość wykonanych badań obrazują artykuły opublikowane w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania.

Wnioski końcowe

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Katarzyna Jakimiuk spełnia wymogi formalne i merytoryczne określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym. W związku z powyższym zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego

w Białymstoku o przyjęcie niniejszej rozprawy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Jednocześnie, ze względu na wysoką wartość uzyskanych wyników wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

KIEROWNIK
Zakładu Chemii Produktów
Pochodzenia Naturalnego
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Krzyszyna Skalicka-Woźniak
prof. dr hab. Krzyszyna Skalicka-Woźniak

Prof. dr hab. Krzyszyna Skalicka-Woźniak