

Warszawa, 19 czerwca 2019 r.

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

***Cynoglossum columnae* Ten. - badania biotechnologiczne, fitochemiczne i biologiczne**

mgr farm. Małgorzata Jeziorek

Promotor: prof. dr hab. n. farm. Agnieszka Pietrosiuk

Zakład Biologii Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin Leczniczych

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Tematem niniejszej pracy doktorskiej były badania biotechnologiczne, fitochemiczne i biologiczne występującego w regionie śródziemnomorskim endemicznego gatunku *Cynoglossum columnae* Ten. (*Boraginaceae*). Podjęte badania miały na celu wprowadzenie do hodowli *in vitro* gatunku *C. columnae*, w tym uzyskanie kultur korzeni anatomicznych oraz włośnikowatych. Głównym celem była identyfikacja metabolitów wtórnych w uzyskanym z hodowli *in vitro* materiale roślinnym oraz weryfikacja potencjału farmaceutycznego ekstraktów i wyizolowanych związków – zbadanie ich aktywności cytotoksycznej wobec wybranych linii komórek nowotworowych i aktywności przeciwbakteryjnej.

Przeprowadzone eksperymenty biotechnologiczne pozwoliły uzyskać i prowadzić w opracowanych warunkach kultury *in vitro* pędów oraz korzeni anatomicznych. Uzyskano również kulturę korzeni włośnikowatych stosując agrotransformację pędów *C. columnae*. W badaniach zastosowano szczep *Agrobacterium rhizogenes* ATCC 15834. Transformację potwierdzono metodą PCR. Stwierdzono, że jedynie korzenie anatomiczne *C. columnae* wytwarzały w hodowli *in vitro*, na wyselekcjonowanej zmodyfikowanej płynnej pożywce DCR (Gupta & Durzan, 1985), istotne pod względem chemotaksonomicznym i farmaceutycznym barwne naftochinony. Ekstrakty z materiału roślinnego i pożywki pohodowlanej poddano szczegółowej analizie chromatograficznej, w wyniku której po raz pierwszy wyizolowano z kultur *in vitro* korzeni anatomicznych *C. columnae* dwie pochodne naftochinonu. Struktury zidentyfikowano metodami spektroskopowymi i nadano nazwy rinderol i cynoglosol. W ekstraktach metanolowych z uzyskanych *in vitro* korzeni włośnikowatych zidentyfikowano kwas rozmarynowy oraz ester metylowy kwasu litosperowego. Ponadto przeprowadzono analizę materiału roślinnego *C. columnae* pochodzącego z uprawy w gruncie. Wyizolowano siedem związków z metanolowych ekstraktów z pędów oraz korzeni. β -Arbutyna oraz trzy alkaloidy pirolizydynowe, t.j.: N-tlenek 2'-epi-heliosupiny, N-tlenek rinderyny i N-tlenek 3'-O-acetylorinderyny zostały wyizolowane z części nadziemnych rośliny. N-tlenek echinatyny, kwas rozmarynowy oraz ester metylowy kwasu litosperowego zostały wyizolowane z korzeni. Obecność dwóch ostatnich potwierdzono również w korzeniach włośnikowatych z kultur *in vitro*. Struktury wyizolowanych związków zostały oznaczone metodami spektroskopowymi.

Zbadano cytotoksyczność naftochinonów rinderolu i cynoglosolu wobec linii komórek rakowych HL-60, HeLa i HCT-116. Rinderol wykazywał najwyższą aktywność wobec linii HL-60 ($IC_{50}=2 \mu\text{g/ml}$),

podczas gdy cynoglosol wykazywał selektywną aktywność wobec HL-60 ($IC_{50}=4,3 \mu\text{g/ml}$). Odnotowano również aktywność przeciwbakteryjną rinderolu wobec szczepów *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ($MIC=3,91 \mu\text{g/ml}$) i *Staphylococcus epidermidis* MRSE 456 ($MIC=7,81 \mu\text{g/ml}$).

Badania wykonane w niniejszej pracy poszerzają wiedzę fitochemiczną o nie badanym dotąd w tym zakresie gatunku, a wyniki eksperymentów biotechnologicznych i biologicznych wskazują na możliwości zastosowania kultur *in vitro* *Cynoglossum columnae* Ten. jako źródła związków biologicznie aktywnych. W szerszym ujęciu i wśród innych prac naukowych, niniejsza potwierdza znaczenie hodowli korzeniowych *in vitro* w wytwarzaniu metabolitów wtórnych o aktywności biologicznej oraz potencjał metod biotechnologicznych do uzyskiwania barwnych naftochinonów, w tym również do otrzymywania nowych naturalnych związków.