



Czarcia miotła brzozy (*Betula L.*): Analiza fitochemiczna i ocena jej tradycyjnego oraz potencjalnego współczesnego zastosowania w leczeniu chorób skóry.

Adrian Strus, Jakub P. Piwowarski, Marcin Równicki
Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Bioanalizy, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, Polska

WSTĘP



Rysunek 1 Przykłady czarcich miotel na brzozech. Po lewej: Liverpool, Wielka Brytania. Po prawej: Berlin, Niemcy.

Czarcia miotła (Rys. 1), wywołwana przez gatunki grzybów z rodzaju *Taphrina*, prowadzi do powstawania guzowatych struktur na brzozie (*Betula L.*) w wyniku zaburzeń metabolicznych gospodarza. Surowiec ten był wykorzystywany w tradycyjnej medycynie Saamów w leczeniu schorzeń skóry.

Dane etnofarmakologiczne wskazują na potencjalne działanie biologiczne, w tym przeciwnowotworowe i hamujące migrację komórek, jednak jego skuteczność nie została dotychczas potwierdzona eksperymentalnie.

CEL PRACY

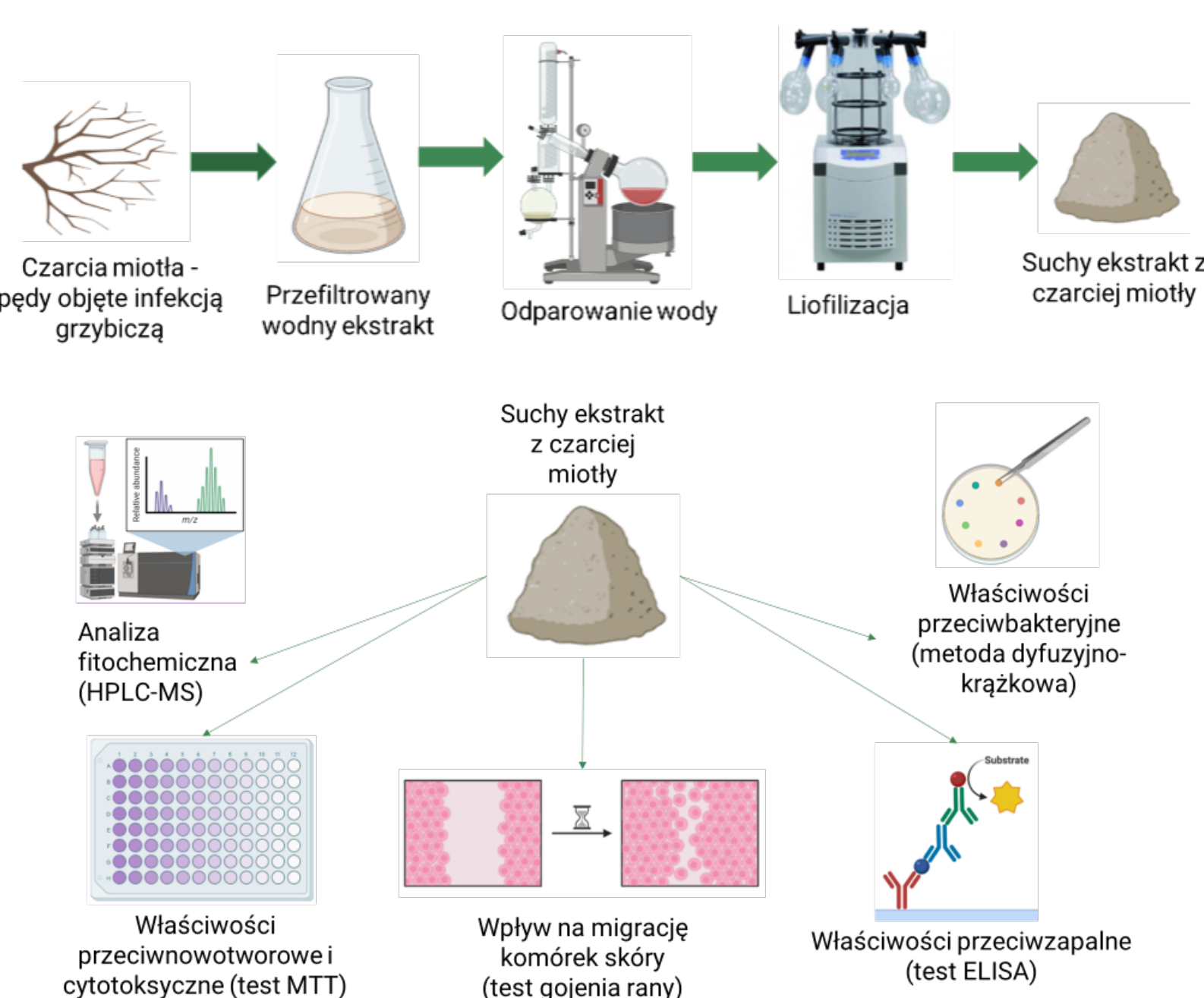
Analiza składu chemicznego oraz ocena aktywności biologicznej ekstraktu z czarnej miotły w kontekście potencjalnego zastosowania w terapii chorób skóry.

MATERIAŁY I METODY

Próbki czarcich miotel pobrano z brzoź rosnących w Berlinie (Niemcy). Jako kontrolę zastosowano ekstrakt z niezainfekowanej brzozy. **Ekstrakty przygotowano z użyciem wody jako rozpuszczalnika, zgodnie z tradycyjnymi praktykami medycyny ludowej.** Analizę chemiczną przeprowadzono metodą HPLC-DAD-MS, identyfikując siedem grup związków chemicznych.

Aktywność biologiczną oceniono z wykorzystaniem następujących testów:

- **test MTT** na komórkach HaCaT (keratynocyty) oraz HTB-140 (czerniak) w celu oceny cytotoksyczności
- **test gojenia się rany ang. „scratch assay”** do oceny migracji keratynocytów
- **test ELISA** do oznaczenia poziomu IL-6 i IL-8 w ocenie aktywności przeciwzapalnej
- **metodę dyfuzji krążkowej** w celu oceny aktywności przeciwbakteryjnej wobec wybranych patogenów człowieka



Rysunek 2 Przegląd metodologii. Schemat przedstawia proces przygotowania ekstraktu z czarnej miotły, a następnie jego analizę chemiczną i biologiczną.

WYNIKI

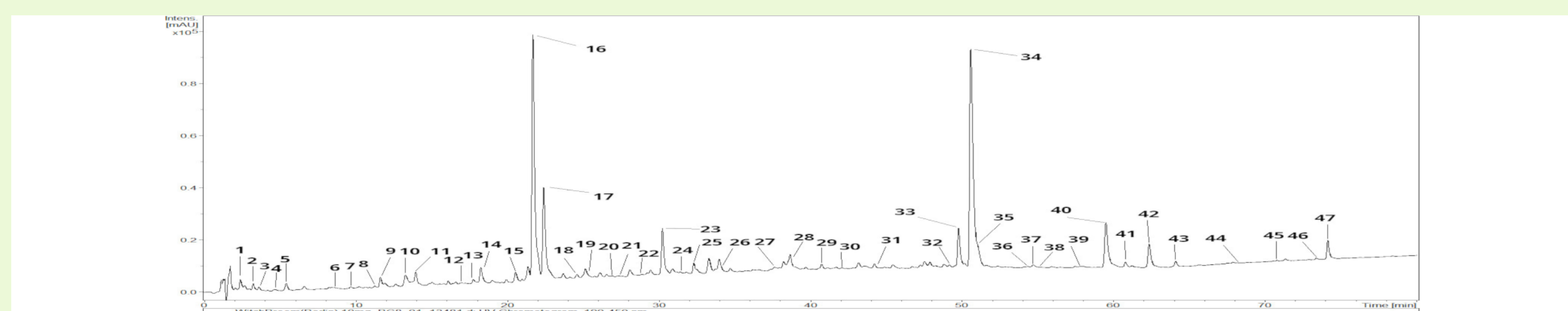
Analiza HPLC-DAD-MS ekstraktu czarnej miotły z Berlina wykazała obecność **47 pików chromatograficznych** pochodzących od różnych związków chemicznych, co podkreśla jego złożony profil chemiczny (Rys.3).

Zidentyfikowano zostało 30 z nich a odpowiadają one 26 unikalnym cząsteczkom.

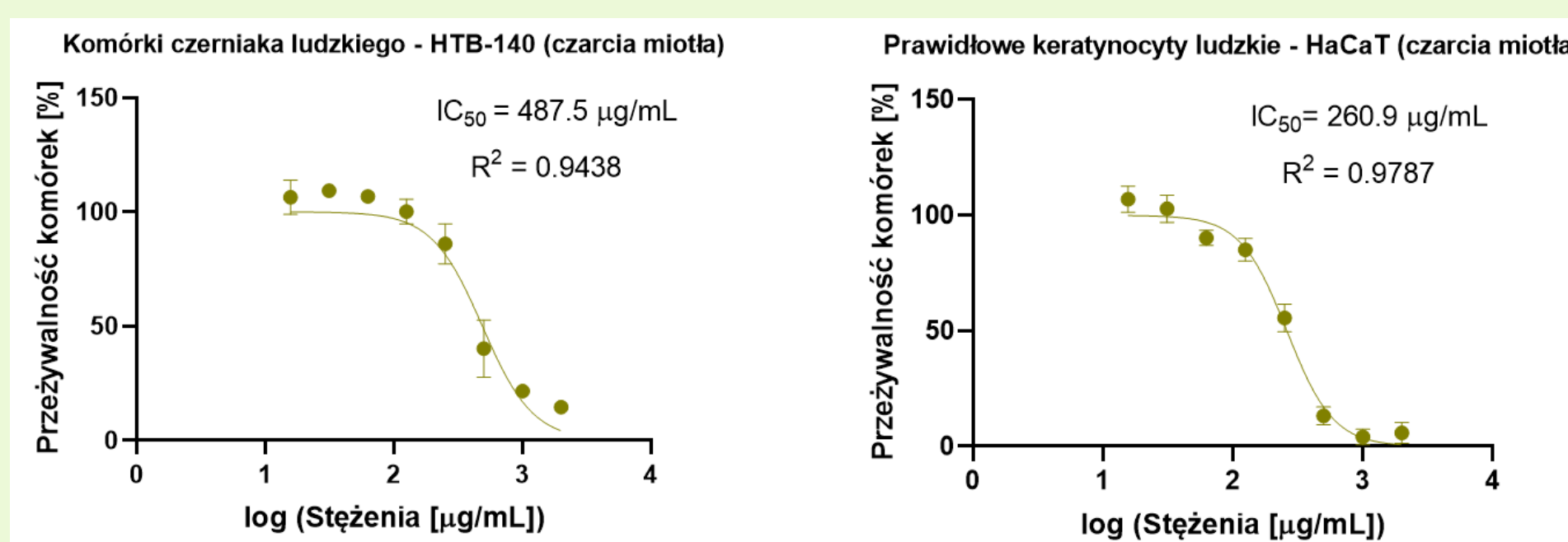
Na podstawie porównania profili chromatograficznych wyróżniono zostało 17 pików występujących wyłącznie w czarnej miotle.

Pik nr.	Czarcia miotła Berlin	Brzoza Berlin	Identyfikacja	Pik nr.	Czarcia miotła Berlin	Brzoza Berlin	Identyfikacja	Pik nr.	Czarcia miotła Berlin	Brzoza Berlin	Identyfikacja
1	+	+	Kwas izocytynowy	17	+	+	Katechina (addukt)	33	+	+	
2	+	+		18	+	+	glikozyd diarylheptanoidowy	34	+	-	Platyfolyzyd
3	+	+	Arbutyna	19	+	+		35	+	+	Platyfolyzyd
4	+	+		20	+	+	O-pantoyl katechiny	36	+	-	
5	+	+	(epigallocatechina)	21	+	+	Pochodna kwasu karbowego	37	+	-	
6	+	+	Monogalusan glikozyd	22	+	-		38	+	-	
7	+	-	Kwas loganowy	23	+	+	Rododendryna	39	+	+	
8	+	+	Procyanidyna A	24	+	+	Apizytio-O-rododendryna	40	+	+	
9	+	+	4-O-heksazyd kwasu protokatechinowego	25	+	+	Apizytio-O-rododendryna	41	+	+	Diapizytio-O-acetylozyd VIII
10	+	+	Procyanidyna C	26	+	-		42	+	+	Diapizytio-O-acetylozyd VIII
11	+	+	O-karyozyl procyanidyny C	27	+	+		43	+	-	Acetylozyd VIII (addukt)
12	+	+	O-diheksazyd katechiny	28	+	+	Platyfolyzyd	44	+	-	Kwas oksodihydrokatechinylooctadecanowy
13	+	+	Pochodna katechiny	29	+	+	Platyfolyzyd	45	+	-	
14	+	+	O-glukuronid katechiny	30	+	+	pochodna apigeniny	46	+	-	glikozyd diarylheptanoidowy
15	+	+		31	+	-		47	+	-	
16	+	+	O-pantoyl katechiny	32	+	-					

Tabela 1 Porównanie wykrytych związków w czarnej miotle i niezainfekowanej brzozie.



Rysunek 3 Reprezentacyjny chromatogram HPLC-DAD-MS wodnego ekstraktu czarnej miotły zebranej w Berlinie, ukazujący złożoność profilu chemicznego próbki poprzez obecność licznych pików chromatograficznych oraz ich anotacji.



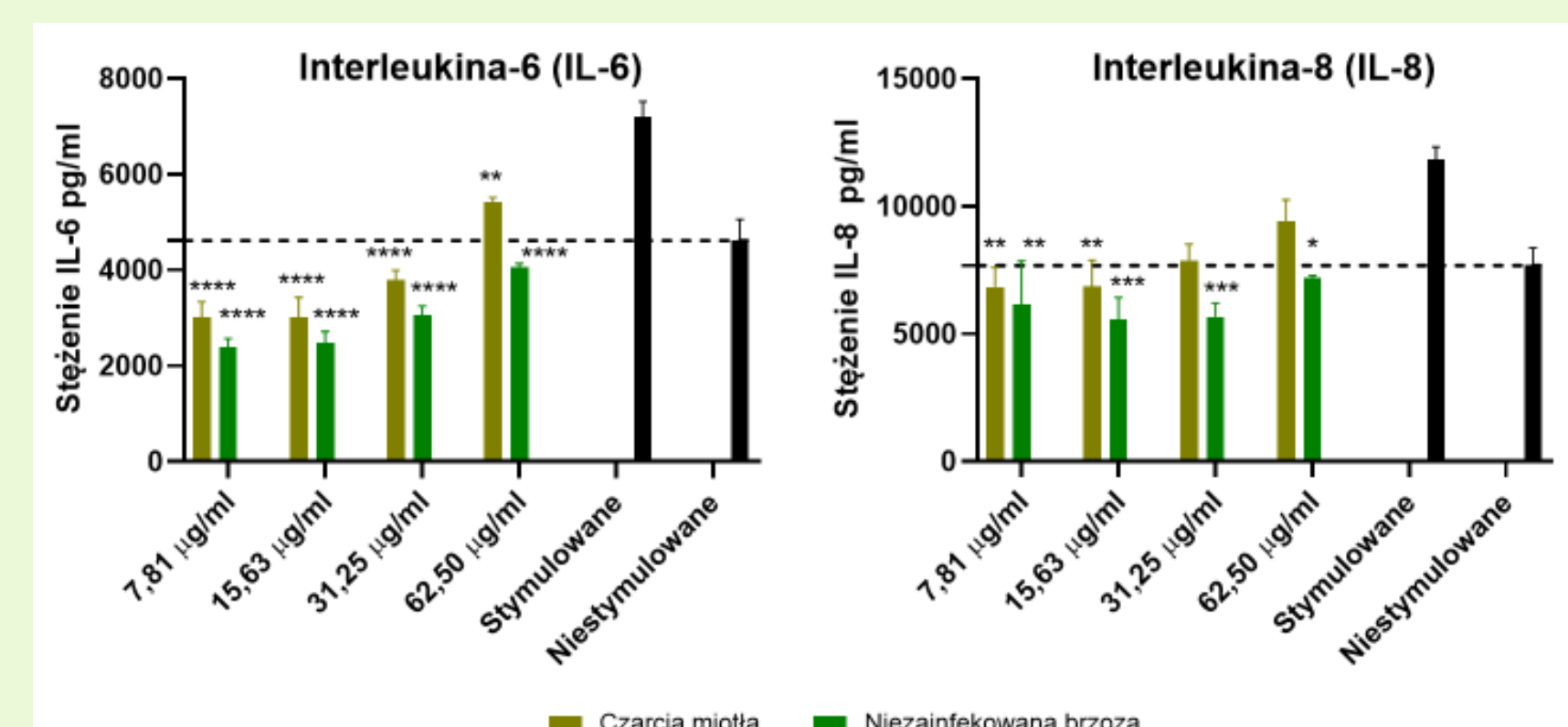
Rysunek 4 Cytotoksyczność ekstraktu z czarnej miotły oceniona metodą testu MTT.

Ekstrakt z czarnej miotły wykazał umiarkowany efekt cytotoksyczny wobec badanych linii komórkowych.

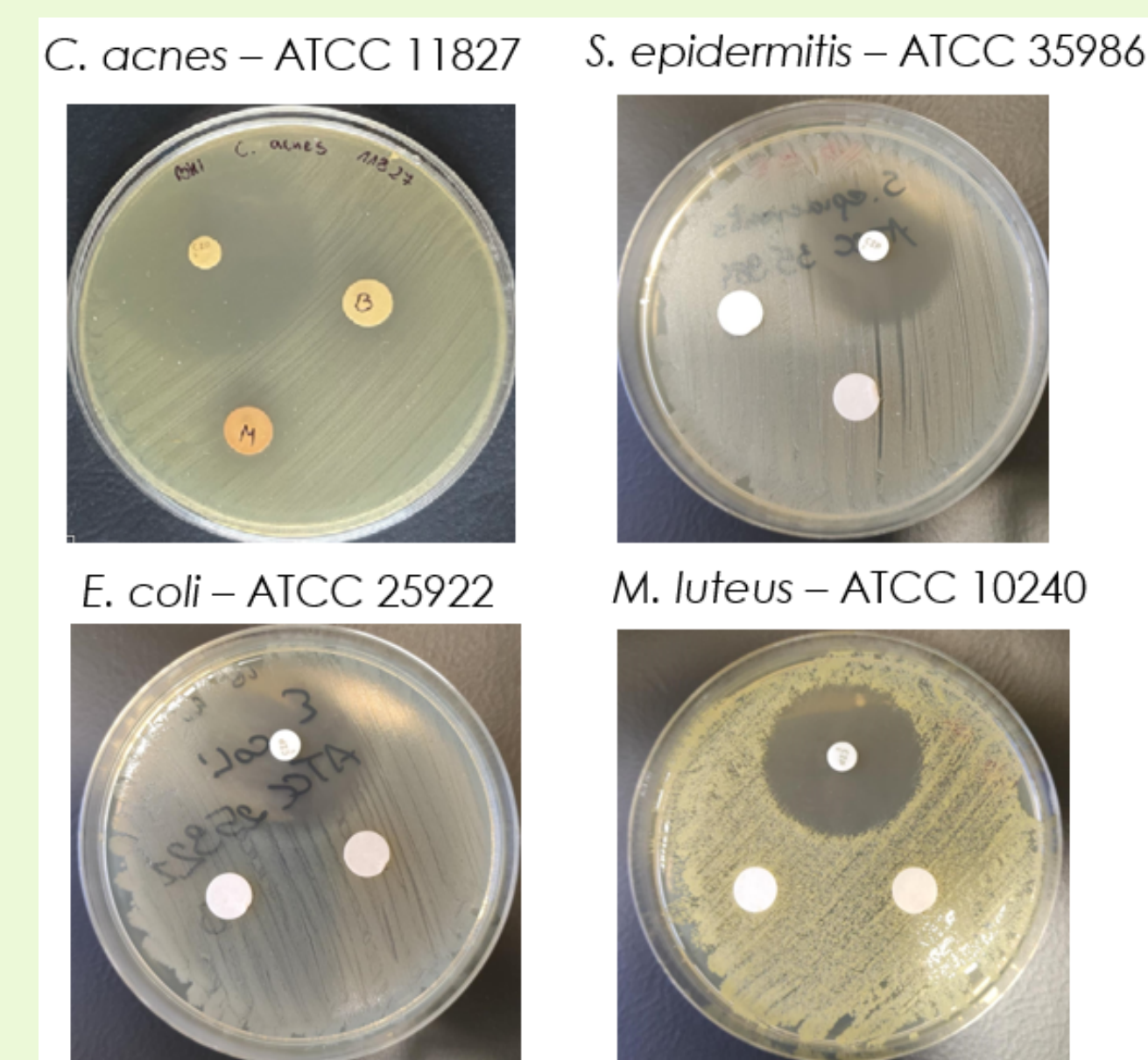
Wartości IC₅₀ wyniosły odpowiednio 260,9 µg/mL dla keratynocytów (HaCaT) oraz 487,5 µg/mL dla komórek czerniaka (HTB-140) (Rys. 4).

Badania przeciwzapalne wykazały, że ekstrakt z czarnej miotły powodował **zmniejszenie produkcji IL-6, podczas gdy poziom IL-8 pozostawał niezmienny**, co wskazuje na selektywny efekt modulujący w zakresie ekspresji cytokin (Rys. 5).

Ekstrakt z czarnej miotły w stężeniu 62,5 µg/mL istotnie hamował migrację komórek, osiągając **poziom inhibicji 99,09 ± 4,71% względem kontroli po 48 godzinach inkubacji** (Rys. 6).

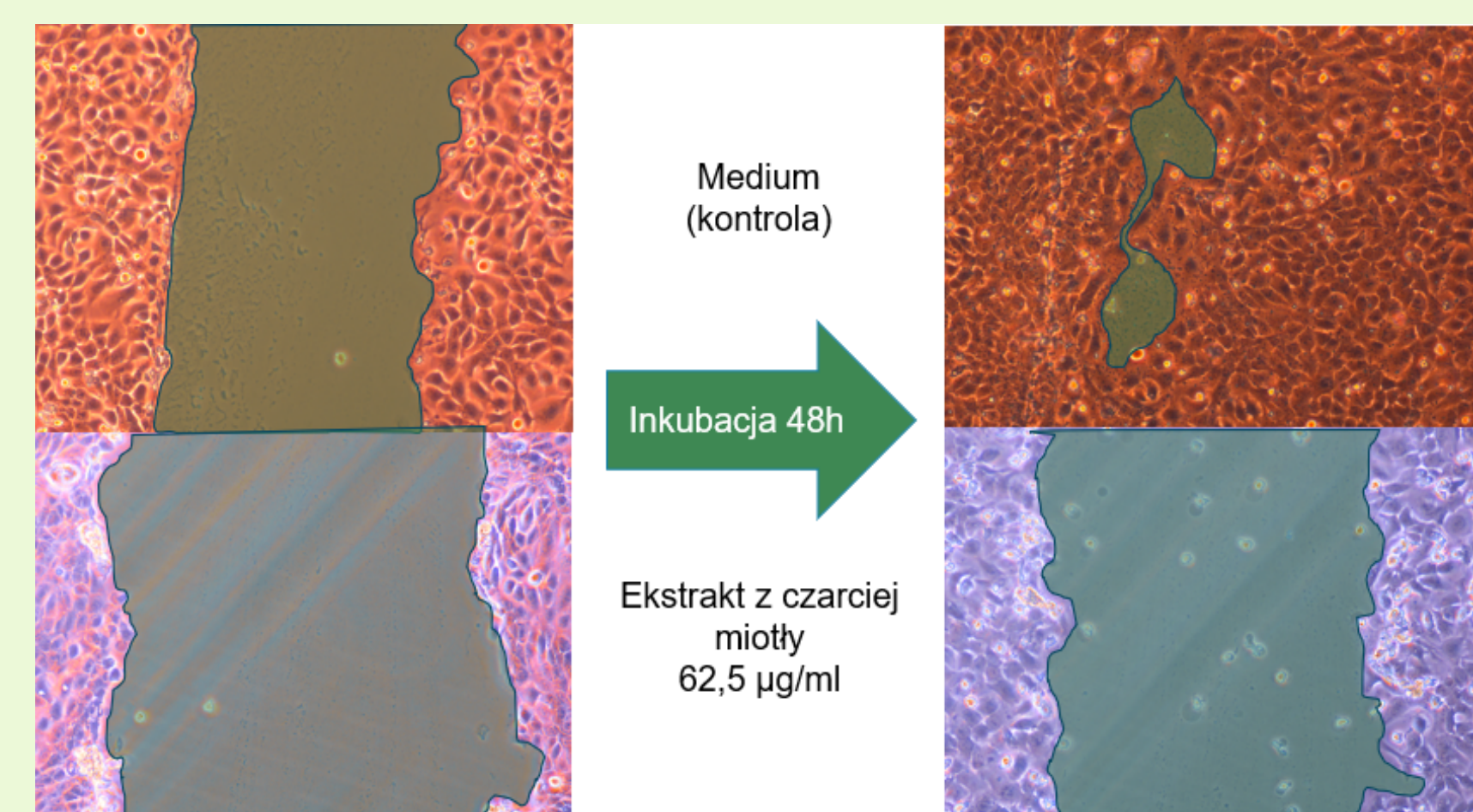


Rysunek 5 Wpływ wodnego ekstraktu z czarnej miotły na produkcję prozapalnych cytokin w keratynocytach HaCaT. Istotność statystyczną przedstawiono względem kontroli stymulowanej.



Rysunek 7 Ocena aktywności przeciwbakteryjnej ekstraktu z czarnej miotły z zastosowaniem metody dyfuzyjno-krążkowej.

Wstępne testy na wybranych patogenach skórnych wykazały **aktywność wyłącznie wobec C. acnes** (Rys. 7).



Rysunek 6 Wyniki testu migracji komórek (scratch assay) w linii HaCaT.

FINANSOWANIE

Badania zostały finansowo wsparte przez MiniGrant Studencki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (WF4L/1/F/MG/N/25/26).

WNIOSKI

Ekstrakt z czarnej miotły brzozy zawiera związki bioaktywne zgodne z jej tradycyjnym zastosowaniem etnofarmakologicznym. Zdolność tych ekstraktów do modulacji procesów zapalnych, hamowania migracji keratynocytów oraz selektywnego wpływu na komórki skóry wskazuje na ich potencjał jako podstawy do opracowania nowych terapii dermatologicznych inspirowanych medycyną tradycyjną.