



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

dr hab. Agnieszka Galanty

Katedra i Zakład Farmakognozji

Kraków, 21. 07. 2023

RN-BF 4000.2.2020
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RPN/13253/2023
RADY DISCYPLINY NAUKI FARMACEUTYCZNE
Podpis *Foralewska*
28. 07. 2023

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Anety Starzec

pt.

„Badania związków wielofenolowych w gatunku *Cistus x incanus* L.”

zrealizowanej w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, pod opieką naukową Promotora, prof. dr hab. n. farm. Izabeli Feckiej i Promotora pomocniczego, dr. n. farm Macieja Włodarczyka

Uwagi ogólne dotyczące strony formalnej

Zasadniczą częścią przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej mgr Anety Starzec jest zbiór trzech, opublikowanych w latach 2020-2023 i powiązanych tematycznie, artykułów naukowych, wraz ze streszczeniem w języku polskim i angielskim, co jest zgodne z aktualnymi wymaganiami ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 (z późn. zm.), artykuł 187, pkt. 3 i 4. Jego dopełnieniem jest opracowanie, wprowadzające w tematykę rozprawy, określające cele naukowe, podejście metodyczne, uzyskane wyniki oraz ich dyskusję, w odniesieniu do danych literaturowych (30 pozycji). W skład rozprawy włączono także oświadczenia



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

współautorów publikacji oraz krótką informację o całościowym dorobku naukowym Autorki.

Jedna z trzech publikacji, tworzących ww. zbiór, to artykuł przeglądowy, opublikowany w czasopiśmie krajowym *Farmacja Polska*, dwie kolejne to prace oryginalne, które ukazały się w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, tj. *Industrial Crops and Products* oraz *Antioxidants*. Czasopisma te są bardzo cenione w dyscyplinie nauk farmaceutycznych, szczególnie z zakresu fitochemii i fitofarmakologii, co przekłada się na znaczące parametry naukometryczne przedstawionych publikacji, tj. sumaryczny wskaźnik oddziaływania impact factor wynoszący 13,320 oraz liczbę punktów MEiN 370.

W dwóch publikacjach mgr Aneta Starzec jest pierwszym autorem, w tym w jednej również korespondencyjnym, a zawarte w rozprawie doktorskiej stosowne oświadczenia precyzują udział Jej i pozostałych współautorów w powstawaniu tych prac. O ile wiodąca rola Doktorantki w przeprowadzeniu badań nie budzi wątpliwości, fakt, iż według wspomnianych oświadczeń, mgr Aneta Starzec nie deklaruje choćby współudziału w tworzeniu koncepcji i założeń pracy, jest nieco zaskakujący.

Uwagi dotyczące podjętej tematyki i realizacji badań

Tematyka rozprawy doktorskiej mgr Anety Starzec, skupiona jest na czystku szarym (*Cistus x incanus* L.), jednym z ciekawszych i mało poznanych gatunków, co wpisuje się doskonale w obszar badań dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Roślina ta zrobiła w ostatnim latach oszałamiającą karierę jako niemalże panaceum, co jednak nie jest do końca wsparte dowodami naukowymi. Różne gatunki z rodzaju *Cistus* są od setek lat wykorzystywane w medycynie tradycyjnej Bliskiego Wschodu, między innymi w przeziębieniach, stanach zapalnych czy cukrzycy. Opisane w literaturze bogactwo związków polifenolowych, zawartych w roślinach z tego rodzaju, może wskazywać na ich działanie antyoksydacyjne. Stres oksydacyjny stanowi jeden z ważniejszych czynników, indukujących i przyspieszających rozwój wielu poważnych schorzeń, takich jak nowotwory, choroby układu krążenia, schorzenia neurodegeneracyjne czy też cukrzyca, stanowiących coraz większy problem

Katedra i Zakład Farmakognozji

30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. +48 12 620 55 60, fax +48 12 620 55 75

e-mail: farmakog@cm-uj.krakow.pl, www.farmacja.cm-uj.krakow.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

społeczny. W tym kontekście, poszukiwanie nowych surowców roślinnych o zdefiniowanym profilu fitochemicznym oraz znaczącym działaniu antyoksydacyjnym, przekładającym się na ich wykorzystanie w profilaktyce schorzeń cywilizacyjnych, ma ogromne znaczenie.

Zatem problem naukowy, którego rozwiązania podjęła się Doktorantka, wpisuje się bardzo dobrze w ten aspekt nauk farmaceutycznych. Przedmiotem rozprawy była bowiem porównawcza analiza fitochemiczna ekstraktów z kilkudziesięciu komercyjnych produktów, zawierających czystek, pod kątem zawartości związków polifenolowych oraz zbadanie ich aktywności antyoksydacyjnej i hamującej α -glukozydazę, w świetle potencjalnego wykorzystania w profilaktyce cukrzycy. Dodatkowym, bardzo ambitnym celem, była weryfikacja budowy związków o charakterze elagotanoidów, zawartych w czystku, w oparciu o proces ich izolacji z materiału roślinnego i określenie struktury. Problem badawczy, założony w pracy, jest zatem w pełni zasadny i skutkujący dostarczeniem nowatorskich danych. Aktualny stan wiedzy o badanym gatunku został przedstawiony w artykule przeglądowym, inicjującym cykl publikacji, wchodzących w rozprawę doktorską. Bez wątplenia omawiana praca przeglądowa pozwoliła Doktorantce odnaleźć się w tematyce badawczej, jak również wytypować kierunki dalszych prac eksperymentalnych. Pewien niedosyt pozostawia fakt, że praca została opublikowana w czasopiśmie krajowym, podczas gdy, w czasie jej publikowania, w literaturze światowej wyraźnie brakowało podobnego opracowania.

Szeroko zakrojone badania, przedstawione w pracy, obejmowały jakościową i ilościową analizę fitochemiczną, ukierunkowaną na związki polifenolowe, takie jak flawonoidy, fenolokwasy czy elagotanoidy, którym przypisuje się główną rolę w działaniu antyoksydacyjnym. Doktorantka wykazała obecność ponad 50 polifenoli ze wspomnianych grup, a ponad 20 z tych związków oznaczyła ilościowo. Co istotne, analiza ta była poprzedzona optymalizacją procesu ekstrakcji surowca. Jest to bardzo ważny, często pomijany, aspekt badań fitochemicznych, zapewniający standaryzację otrzymywania ekstraktów, powtarzalność ich składu, a także, co za tym idzie, zdefiniowanej aktywności biologicznej. Takie podejście analityczne w fitochemii zasługuje na wyróżnienie i może stanowić solidną podstawę do dalszych badań nad

Katedra i Zakład Farmakognozji

30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. +48 12 620 55 60, fax +48 12 620 55 75

e-mail: farmakog@cm-uj.krakow.pl, www.farmacja.cm-uj.krakow.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

aktywnością tak scharakteryzowanych ekstraktów. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę uzupełniają i wzbogacają dotychczasowe informacje o profilu polifenolowym liści czystka, również w kontekście wartości surowców pochodzących z różnych miejsc uprawy.

Szczególnie cennym elementem przedstawionej rozprawy doktorskiej jest aspekt izolacji związków, w wyniku czego Doktorantka uzyskała 3 elagotanoidy i 7 flawonoidów i określiła ich struktury za pomocą odpowiednio dobranego szerokiego panelu analiz spektralnych. Co warto podkreślić, jeden z wyizolowanych elagotanoidów okazał się nową strukturą, przy ustalaniu której Doktorantka zweryfikowała i skorygowała opublikowane wcześniej dane literaturowe.

Poza badaniami fitochemicznymi, Doktorantka określiła także aktywność antyoksydacyjną i hamującą α -glukozydazę badanych ekstraktów, wskazując na ich znaczący potencjał, co daje asumpt do dalszych, szerzej zakrojonych badań nad działaniem przeciwcukrzycowym w modelach *in vitro* i *in vivo*.

Prowadząc badania własne, mgr Aneta Starzec wykazała się umiejętnościami laboratoryjnymi z zakresu fitochemii, obejmującymi różne techniki chromatograficzne (CC, HPLC, UHPLC-ESI-qTOF-MS), spektralne i spektrofotometryczne. Duża ilość przebadanych próbek i mnogość przeprowadzonych analiz wskazują na umiejętność dobrego planowania eksperymentów i dużą pracowitość Doktorantki. W efekcie powstały wartościowe publikacje, będące trzonem ocenianej rozprawy. Przeprowadzone badania nie tylko dostarczają nowatorskich danych, lecz także wyraźnie systematyzują dotychczasowe informacje o badanym gatunku.

Wśród najważniejszych osiągnięć mgr Anety Starzec można wymienić:

- i. Jakościowe i ilościowe określenie i porównanie profilu polifenolowego próbek badanego gatunku, pochodzących z upraw w różnych rejonach geograficznych;
- ii. Zaproponowanie procedury wytwarzania wystandaryzowanego ekstraktu z czystka;
- iii. Wyizolowanie dziesięciu związków, w tym nowego elagotanoidu, cystuzyny, i weryfikacja jego ostatecznej struktury;
- iv. Określenie w modelu *in vitro* potencjału przeciwcukrzycowego badanych ekstraktów i wskazanie ich roli w profilaktyce i wspomaganie leczenia cukrzycy;

Katedra i Zakład Farmakognozji

30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. +48 12 620 55 60, fax +48 12 620 55 75

e-mail: farmakog@cm-uj.krakow.pl, www.farmacja.cm-uj.krakow.pl



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

- v. Wykazanie dodatniej korelacji pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną badanych ekstraktów a sumą flawonoidów i elagotanoidów;

Wymienione powyżej osiągnięcia dowodzą oryginalności rozwiązań problemów naukowych przez Doktorantkę i wskazują na nowatorski charakter badań, spełniając tym samym wymaganie sformułowane w artykule 187, pkt. 2 Ustawy.

Chcę podkreślić, że zarówno w tekście rozprawy, jak i w samych publikacjach, mgr Aneta Starzec szeroko dyskutuje uzyskane przez siebie wyniki na tle innych doniesień literaturowych, zwracając uwagę na rozbieżności i wskazując na możliwe wyjaśnienia oraz sugerując kierunki dalszych badań. Zawarte w tekście rozprawy oraz trzech przedstawionych publikacjach treści świadczą więc o szerokiej wiedzy teoretycznej Doktorantki w dyscyplinie, którą reprezentuje, jak również potwierdzają umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych, zatem oceniana rozprawa spełnia wymóg zawarty w art. 187, pkt.1 Ustawy.

Niemniej w trakcie lektury nasunęło mi się kilka uwag oraz pytań:

1. W pracy zabrakło dostępu do danych, określonych w publikacjach jako materiały dodatkowe (supplementary materials) – ich obecność ułatwiłaby czytanie i porównanie uzyskanych wyników, w odniesieniu choćby do próbek czystka pochodzących z różnych rejonów geograficznych – w publikacjach są tylko dane uśrednione dla danego rejonu.
2. Biorąc pod uwagę wyniki analizy ilościowej badanych ekstraktów, Doktorantka mogła pokusić się o przeprowadzenie korelacji aktywności antyoksydacyjnej i przeciwucukrzycowej ekstraktów, w odniesieniu do zawartości poszczególnych związków. W przypadku aktywności antyoksydacyjnej, korelacje takie zostały przeprowadzone tylko wobec sum poszczególnych grup polifenoli, co pozostawia pewien niedosyt. Próba wskazania, które związki w największym stopniu odpowiadają za aktywność ekstraktów, byłaby cennym uzupełnieniem badań i jednocześnie sugestią ukierunkowania dalszych badań w przyszłości
3. Szkoda, że w autoreferacie Doktorantka w minimalnym tylko stopniu opisała proces optymalizacji ekstraktów i nie wspomniała o badaniu kinetycznego mechanizmu działania przy aktywności hamowania α -glukozydazy – to w

Katedra i Zakład Farmakognozji

30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. +48 12 620 55 60, fax +48 12 620 55 75

e-mail: farmakog@cm-uj.krakow.pl, www.farmacja.cm-uj.krakow.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

mojej opinii bardzo ważne i cenne elementy badań i powinny zostać nieco szerzej opisane, zachęcając tym samym do wnikliwej lektury publikacji.

4. W pracy, jak każdym dziele pisany, pojawiły się także drobne i nieliczne błędy stylistyczne i interpunkcyjne, jak choćby przymiotniki „grecki, turecki” pisane raz małą, a raz wielką literą, jednakże całość dysertacji przygotowana jest starannie i z dbałością językową.

Powyższe uwagi i pytania wynikają z obowiązku recenzenta i nie wpływają na moją pozytywną opinię o rozprawie doktorskiej i osiągnięciach badawczych mgr Anety Starzec.

Podsumowanie i wnioski końcowe

W podsumowaniu stwierdzam, że **rozprawa mgr Anety Starzec spełnia warunki określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (z późn. zm.)**. Badania, których efektem są publikacje zawarte w rozprawie doktorskiej stanowią **istotny wkład w rozwój dyscypliny nauk farmaceutycznych, uzyskane wyniki dostarczają ciekawych danych, jednocześnie weryfikując i uzupełniając wcześniejsze informacje o czystku szarym**. Wysoki poziom wiedzy i umiejętności Autorki jest dodatkowo poparty dorobkiem i aktywnością nie wchodzącymi w zakres recenzowanej rozprawy doktorskiej (publikacja eksperymentalna, IF = 4,927 i 140 pkt. MEiN; publikacja przeglądowa, 70 pkt MEiN; 22 doniesienia konferencyjne; aktywność organizacyjna i popularyzująca naukę; doświadczenie dydaktyczne).

W związku z powyższym, wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Anety Starzec do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Katedra i Zakład
Farmakognozji UJ CM
Agnieszka Galanty
dr hab. Agnieszka Galanty
adiunkt