

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Wyb. L. Pasteura 1
50-367 Wrocław

za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Sylwester Ślusarczyk
(imię i nazwisko wnioskodawcy)
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu/Katedra Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 19.11.2021.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego

w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego : „**Analiza fitochemiczna wybranych roślin leczniczych z uwzględnieniem ich wielokierunkowej bioaktywności**”

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl , tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu.

Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html



Signed by /
Podpisano przez:

Sylwester
Ślusarczyk

Date / Data:
2021-11-19 12:40

.....
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

- 1) Dane wnioskodawcy
- 2) Autoreferat
- 3) Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

AUTOREFERAT

Dr Sylwester Ślusarczyk

Wydział Farmaceutyczny

Wrocław, 19.11.2021



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

1. Imię i nazwisko.

Sylwester Ślusarczyk

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2001 – Magister farmacji w zakresie farmacja apteczna Wydział Farmaceutyczny, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

2013- Doktor nauk farmaceutycznych w zakresie Biologia Farmaceutyczna Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu , Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej
Tytuł rozprawy doktorskiej:” Właściwości przeciwpierwotniakowe, przeciwutleniające i hamujące aktywność enzymów prozapalnych *in vitro* substancji roślinnych z trzech gatunków *Salvia* oraz *Perovskia atriplicifolia*”

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

12/2005 - 09/2013 - asystent w Katedrze Biologii i Botaniki Farmaceutycznej , Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

10/2013 - obecnie - adiunkt w Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Katedry Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

12/2014 -11/2017 - PostDoc w Zakładzie Biochemii i Jakości Plonów, Instytut Upraw Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

2001- obecnie - praca w aptece

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

a. Tytuł osiągnięcia naukowego

„ANALIZA FITOCHEMICZNA WYBRANYCH ROŚLIN LECZNICZYCH Z UWZGLĘDNIENIEM ICH WIELOKIERUNKOWEJ BIOAKTYWNOŚCI”

b. Autorzy i tytuły publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego:

1. **P-1. Ślusarczyk, S.**, Topolski, J., Domaradzki, K., Adams, M., Hamburger, M. & Matkowski, A. 2015, "Isolation and fast selective determination of nor-abietanoid diterpenoids from *Perovskia atriplicifolia* roots using LC-ESI-MS/MS with multiple reaction monitoring", *Natural Product Communications*, vol. 10, no. 7, pp. 1149-1152.

IF: 0.88

Pkt. MNiSW: 20

Udział własny: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstraktów, rozdziały chromatograficzne, izolacja diterpenów i ich oczyszczanie. Walidacja metody LCMS. Ocena ilościowa głównych diterpenów w ekstrakcie. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

2. **P-2. Ślusarczyk, S.**, Sezer Senol Deniz, F., Abel, R., Pecio, Ł., Pérez-Sánchez, H., Cerón-Carrasco, J.P., Den-Haan, H., Banerjee, P., Preissner, R., Krzyżak, E., Oleszek, W., Orhan, I.E. & Matkowski, A. 2020, "Norditerpenoids with selective anti-cholinesterase activity from the roots of *Perovskia atriplicifolia* benth.", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 12, pp. 1-18
IF: 5.92
Pkt. MEiN: 140
Udział własny: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstarktów, rozdziały chromatograficzne, izolacja związków i ich oczyszczanie, identyfikacja otrzymanych związków. Analizy HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Ilościowa analiza dla izolowanych związków z ekstraktu. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.
3. **P-3.Ślusarczyk, S.**, Senol Deniz, F.S., Woźniak, D., Pecio, Pérez-Sánchez, H., Cerón-Carrasco, J.P., Stochmal, A., den-Haan Alonso, H., Matkowski, A. & Orhan, I.E. 2019, "Selective in vitro and in silico cholinesterase inhibitory activity of isoflavones and stilbenes from *Belamcandae chinensis* rhizoma", *Phytochemistry Letters*, vol. 30, pp. 261-272.
IF: 1.45
Pkt. MEiN: 70
Udział własny: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstarktów, rozdziały chromatograficzne, izolacja związków i ich oczyszczanie, identyfikacja otrzymanych związków. Analizy HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.
4. **P-4.Ślusarczyk, S.**, Cieślak, A., Yanza, Y.R., Szumacher-Strabel, M., Varadyova, Z., Stafiniak, M., Wojnicz, D. & Matkowski, A. 2021, "Phytochemical profile and antioxidant activities of *Coleus amboinicus* Lour. Cultivated in Indonesia and Poland", *Molecules*, vol. 26, no. 10.
IF: 4.41
Pkt. MNiSW: 100
Udział własny :Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstarktów, rozdziały chromatograficzne. Analizy sprawdzające potencjał oksydacyjny ekstraktów. Analizy HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Analiza wielowymiarowa danych. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.
5. **P-5.Woźniak, D., Ślusarczyk, S.**, Domaradzki, K., Dryś, A. & Matkowski, A. 2018, "Comparison of Polyphenol Profile and Antimutagenic and Antioxidant Activities in Two Species Used as Source of *Solidagin* herba – Goldenrod", *Chemistry and Biodiversity*, vol. 15, no. 4.
IF: 1.44
Pkt. MNiSW: 25
Udział własny : Współudział w opracowaniu koncepcji pracy i zaplanowaniu badań. Wykonanie ekstarktów, rozdziały chromatograficzne. HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Analiza wielowymiarowa danych i interpretacja wyników. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

Do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego dołączono oświadczenia współautorów publikacji określające indywidualny wkład każdego z nich w ich powstanie.

c. Omówienie celu naukowo-badawczego ww. prac, osiągniętych wyników i ich ewentualne wykorzystanie.

Wprowadzenie

Istotny postęp jaki miał miejsce w ciągu ostatniego dziesięciolecia w analizie fitochemicznej dla substancji pochodzenia roślinnego ewoluował w kierunku potężnych narzędzi, zapewniających powtarzalność wyników, lepszą ocenę ich jakości oraz szybkości wykonywania analiz. Analiza składu materiału roślinnego stanowi trudne zadanie, ponieważ są to mieszaniny setek, a nawet tysięcy związków naturalnych, często o zbliżonych właściwościach fizykochemicznych. W klasycznym ujęciu analizy fitochemicznej skupiamy się na najważniejszych bioaktywnych składnikach substancji roślinnej lub na wybranej grupie związków. W tym podejściu najczęściej następuje izolacja i oczyszczanie pojedynczych związków oraz sprawdzenie ich bioaktywności, niekiedy z uwzględnieniem zależności pomiędzy strukturą a efektywnością działania biologicznego. Czaso- i materiałochłonne techniki izolacji i analizy pojedynczych związków roślinnych, coraz częściej zastępowane są metodami całościowej analizy jakościowej i ilościowej ekstraktów roślinnych w ten sposób by uzyskać możliwie kompletny profil fitochemiczny. Najbardziej typowe techniki wykorzystywane w takich badaniach składają się z analiz spektroskopowych dla których takim swoistym łącznikiem jest metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), wraz z detekcją na matrycy fotodiodowej (LC-PDA), lub sprzężoną ze spektrometrią mas (LC-MS) czy jądrowym rezonansem magnetycznym (LC-NMR).

Spektrometria mas (MS) to technika chemii analitycznej oparta na określaniu stosunku masy do ładunku (m/z) analizowanego jonu. Analizowany jon może ulegać rozpadom (fragmentacji) wewnątrz spektrometru mas, który jest pod wysoką próżnią, w celu uzyskania naładowanych jonów potomnych. Proces ten jest znany jako dysocjacja wywołana kolizją. Masy jonów fragmentacyjnych (m/z) można następnie określić w drugim etapie MS, dając początek określeniom MS/MS lub tandemowej spektrometrii masowej. Ponieważ fragmenty i ich liczebność są determinowane przez strukturę analizowanego związku, ilość powstałych fragmentów i masy jonów potomnych są dla każdego analitu charakterystyczne. Zarówno jony molekularne, jak i fragmenty można wykorzystać do identyfikacji metabolitów oraz oznaczeń jakościowych i ilościowych.

Standardowe techniki identyfikacji związków roślinnych często oparte są na analizie LC-MS. Ten rodzaj sprzężonej analizy ciągle się rozwija w kierunku minimalizacji czasu analizy, limitu detekcji, poprawy jakości analizy, dokładności wyników i uzyskaniu coraz lepszej rozdzielczości. Przy bardzo wysokiej czułości metody MS, ilość sygnałów m/z możliwych do interpretacji można jeszcze zwiększyć łącząc ją z techniką rozdzielania HPLC, czy coraz częściej UHPLC. MS może świetnie służyć jako technika wstępnej identyfikacji w analizie metabolomicznej, jako tzw. fingerprint, przy potwierdzeniu obecności danego związku czy grupy związków. Więcej możliwości w tym zakresie daje technika tandemowa MS/MS, przy pomocy której możemy swobodnie monitorować interesujące nas metabolity w próbce, nawet w niektórych wypadkach bez wstępnej izolacji czy separacji.[1] Tandemowa MS daje możliwości monitorowania rozpadu wybranych jonów, a zatem wpływa na zwiększenie czułości metody w stosunku do interesujących nas związków w próbce. Najczęściej w badaniach fitochemicznych opartych na analizie MS stosujemy aparaty o bardzo wysokiej czułości detekcji, a takimi

są MS z detektorem czasu przelotu (MS-TOF), a niekiedy łączone techniki TOF z detektorami kwadropulowymi (MS-Q-TOF). [2]. Często w laboratoriach produktów naturalnych wykorzystywany jest zestaw UHPLC-MS/MS. Mimo dużego postępu w tej dziedzinie, ciągle jednak dość często monitorowanie wszystkich metabolitów w próbce jest niemożliwe ze względu na zbyt małe ich stężenie czy zbyt dużą ich ilość. Uświadamia nam to, że ciągle nie istnieje pojedyncza w pełni skuteczna metoda analizy fitochemicznej, a wybór metody uzależniamy od biologicznych pytań, które stawiając chcemy przy jej użyciu rozwiązać.

Ideą metabolomiki jest holistyczne podejście do badanego materiału, który całościowo jest analizowany w odpowiednim czasie i przy uwzględnieniu odpowiednich warunków. Założeniem metabolomiki jest analiza ilościowa i jakościowa wszystkich metabolitów razem obecnych w badanym materiale, zależnie od czasu i warunków. [3]. Metody oparte na całościowej analizie surowców roślinnych stały się w ostatniej dekadzie bardzo ważne dla badań nad składem chemicznym produktów naturalnych. [3][2]. Termin *metabolomika* był sformułowany po raz pierwszy przez Oliviera i wsp.[4] poprzez analogię do globalnej analizy genów (*genomika*) czy tego typu analizy białek (*proteomika*). Stąd metabolomika tak naprawdę dotyczy końcowego etapu skomplikowanych i ciągle jeszcze mało poznanych procesów powstawania, akumulacji i przetwarzania metabolitów w roślinie, oraz ich wielowymiarową analizę.

Wraz z rozwojem metod wielowymiarowej analizy danych (MVDA- *Multivariate Data Analysis*), matrycę roślinną, taką jak na przykład ekstrakt można również poddawać bezpośredniej analizie przy pomocy techniki NMR lub MS (bez uprzedniej separacji HPLC, która wymaga instrumentów o wysokich parametrach rozdzielczości) i przy pomocy odpowiednich programów statystycznych uzyskane w ten sposób dane można obrabiać i interpretować. Spektrometria mas (MS) charakteryzuje się największą czułością spośród wszystkich metod analitycznych w badaniach produktów naturalnych, a techniki jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) z kolei największą powtarzalnością, co jest istotnym aspektem w eksperymentach metabolomicznych. Jednowymiarowe techniki $^1\text{H-NMR}$ stały się metodami dominującymi ze względu na swoją prostotę i szybkość wykonania i są używane w wielu aplikacyjnych metodach analitycznych np. w kontroli jakości ziół leczniczych, plonów rolnych, wyrobów żywnościowych [5],[6] albo w biologii roślin, np. w chemotaksonomii [7][8], analizie zmienności roślin genetycznie modyfikowanych [9], interakcji z czynnikami środowiskowymi [10] czy patogenami [11]. Technika NMR nie ma takiej czułości jak MS, więc z powodzeniem może być wykorzystywana tam gdzie ta czułość nie jest tak istotna, a ważniejsza jest szybkość i prostota wykonania np. w kontroli jakości roślin leczniczych [12,13] czy w preparatyce farmaceutycznej [5,12,14].

NMR posiada przewagę nad innymi metodami wykorzystywanymi w analizie fitochemicznej ponieważ znacznie upraszcza analizy w badaniach przesiewowych (łatwe przygotowanie próbki, krótki czas analizy, duża powtarzalność wyników). Rozwój NMR pozwala również analizować rośliny bez uprzedniej ekstrakcji np. z kultur *in vitro* czy hodowli komórkowych, używając technik obrazowania - Magnetic Resonance Imaging (MRI), czy High Resolution Magic Angle Spinning (HR-MAS). Technika ta głównie stosowana jest w analizach biomedycznych.

Niebywałą zaletą NMR w badaniach metabolomicznych jest możliwość analizy ilościowej w sposób szybki i prosty; podczas takiej analizy uzyskujemy szybko informację o zawartości związków w próbce. Dzięki tej technice jest również możliwe uzyskanie wszechstronnej informacji o budowie strukturalnej analizowanych związków nawet z uwzględnieniem stereoizomerii. Wadą jednowymiarowych technik NMR jest nakładanie

się sygnałów widma co znacznie utrudnia interpretację wyników. Lepszą rozdzielczość uzyskać można w analizach metabolomicznych stosując techniki dwuwymiarowego NMR (2D NMR), takie jak – 2D homo-jądrowe $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY– COrrelation Spectroscopy– dosłownie: spektroskopia korelacyjna dwuwymiarowa – technika pozwalająca na korelowanie sygnałów pochodzących od jąder tego samego pierwiastka, oddalonych o nie więcej niż trzy wiązania, a ściślej takich, które są ze sobą sprzężone poprzez sprzężenie J ; – 2D hetero-jądrowe $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC– Heteronuclear Single Quantum Correlation– technika pozwalająca na korelowanie sygnałów protonów z sygnałami jąder innego pierwiastka; – 2D-HMBC– Heteronuclear Multiple Bond Coherence– heterojądrowa korelacja (^1H -X) dalekiego zasięgu, czy – NOESY– Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy– technika wykorzystująca jądrowy efekt Overhausera homo– i heterojądrowy– powodujący zmianę (wzrost lub zmniejszenie) intensywności sygnałów, co umożliwi określenie ich wzajemnego położenia/odległości w przestrzeni. Uzyskane spektra NMR są zawsze takie same i nie zależą od miejsca ich wykonania i czasu przy założeniu, że stosujemy ten sam rodzaj siły użytego w nich magnezu, i protokół przygotowawczy, jednym słowem są uniwersalne dla danej analizy. Metody wygenerowane przez techniki NMR stają się bardziej użyteczne, a wyniki dzięki nim uzyskane bardziej czytelne i powtarzalne jeśli porównujemy je z równocześnie prowadzonymi eksperymentami LC-MS. [15].

Analizy metabolomiczne z powodzeniem wykorzystuje się w medycynie, gdzie ocena całościowego składu różnych płynów fizjologicznych człowieka będzie odzwierciedleniem jego stanu zdrowia. W tym zakresie metabolomika na równi z proteomiką i genomiką są pomocne w diagnostyce i profilaktyce wielu chorób, pomagają również szukać skutecznych metod terapeutycznych w wielu jednostkach chorobowych. [16][17]. Obecnie rozwija się wiele metod, które łączą wiedzę z zakresu metabolomiki i proteomiki np. tzw. *Active Based Protein Profiling* (ABPP) metoda oparta na profilowaniu aktywności różnych metabolitów w stosunku do różnych enzymów, co pozwala lepiej zrozumieć rolę poszczególnych metabolitów produkowanych w roślinie. [18]. Poszerzenie wiedzy w zakresie metabolomiki roślin pozwala w lepszy sposób zrozumieć mechanizmy patofizjologiczne odpowiedzi rośliny na różne czynniki te wewnętrzne i zewnętrzne, jak np. czynniki stresogenne.[19]. Metabolomika przyczynia się również w tym zakresie do szukania nowych potencjalnie aktywnych metabolitów roślinnych, które mogłyby być wykorzystane jako leki, oraz może służyć jako szybka i wiarygodna metoda kontroli jakości analizowanego surowca. [20]. Obecnie metabolomika używana jest również w ocenie jakości i ilości składników w wielu produktach spożywczych. [21]. Stanowi ważną część rozwoju metod kontroli jakości w botanice w definicji markerów lub wzorców które mogłyby być wykorzystane w identyfikacji gatunków roślinnych [22,23], czy identyfikacji związków biorących udział w odporności roślin na pestycydy lub różne czynniki biotyczne lub abiotyczne generujące rozmaite choroby u roślin [24]. Jednym z istotniejszych aspektów prowadzonych w wielu ośrodkach naukowych badań metabolomicznych jest wygenerowanie wspólnej bazy danych z jak największą liczbą metabolitów (metadata), jako pomocnych wskaźników dla przyszłych badań, mających na celu lepsze zrozumienie procesów zachodzących w żywej komórce. Trudno jednoznacznie zdefiniować czym tak naprawdę jest metabolomika w ujęciu badań botanicznych, ponieważ równocześnie może być swoistym obrazem charakterystycznym dla gatunku, jednocześnie obrazem „snapshot” odzwierciedlającym warunki uprawy, zmienności dziennej czy sezonowej związków w niej zawartej. Może być odzwierciedleniem stopnia rozwoju danego gatunku, czy odzwierciedleniem wpływu czynników stresogennych. Innymi słowy różnorodność jest prawie nieskończona, aby tą różnorodność jednak jakoś sklasyfikować i uporządkować metabolomika rozpatrywana

jest w trzech aspektach. Pierwszy dotyczy metabolomiki jako charakterystyki fenotypu [25] drugi ujmuje stopień rozwoju rośliny w kontekście metabolomicznym [26] i ostatnia grupa obejmująca zmiany metabolonów pod wpływem czynników zewnętrznych oraz wewnętrznych. Obecnie nie ma jeszcze technicznej możliwości jednoczesnej analizy składu związków z różnych części rośliny. Inny skład w danym momencie będzie charakteryzował liście, a inny korzenie, kwiaty czy owoce. Nawet w obrębie samych liści rozpatrujemy sumę metabolitów uzyskanych z różnych typów komórek a zatem z epidermy, włosków okrywających, parenchymy czy naczyń. Również na poziomie komórki obecność różnych związków związana jest z konkretnymi kompartmentami; w tym przypadku możemy mówić o mikro-metabolomice, a nawet nano-metabolomice. Potwierdzeniem dla tego typu badań jest publikacja Holscher i wsp. [27] w której badano komórki wydzielnicze liści rośliny *Dilatris pillansii* po zastosowaniu mikrodysekcji laserowej (LMD), technice która umożliwiła selekcję i izolację wybranych komórek z materiału zamrożonego rośliny. W analizie ¹H-NMR stwierdzono w tych komórkach nagromadzenie związków o charakterze fitoaleksyn. Podobne badania przeprowadzono na komórkach wydzielniczych włosków *Cannabis sativa* [28]. Ideałem, do którego dąży nauka w przyszłości jest rozwój tej dziedziny w kierunku tzw. fluksomiki czyli badań zmienności i dynamiki przemian w profilu związków w roślinie w sposób ciągły, przyżyciowy. [29]. W analizie chemometrycznej, same sygnały z NMR lub MS nic nie znaczą i aby pozyskać z nich wartościowe informacje biologiczne o badanym materiale należy odpowiednio je przeanalizować. Wąskim gardłem analizy metabolomicznej spektrometrii mas jest szybkie wykrywanie nieznanymi sygnałów (m/z) w analizowanej macierzy biologicznej. Aby usprawnić i przyspieszyć ten proces od pewnego czasu wiele ośrodków zajmujących się metaboliką łączy swoje wysiłki dzieląc się swoimi wynikami pod wspólnym szyldem określanym jako platforma GNPS (Global Natural Product Social Molecular Networking) gdzie wykorzystuje się dane z tandemowej spektrometrii masowej (MS/MS) do opisywania metabolitów. Tworzone sieci molekularne (MetNet) pomagają w wizualizacji przestrzeni chemicznej danych sygnałów m/z w ramach prowadzonego eksperymentu metabolomicznego. Ostatnio sieci molekularne połączono z metodami wykrywania sygnałów m/z, aby stworzyć sieci molekularne oparte na tych sygnałach Feature-Based Molecular Networking (FBMN). FBMN umożliwiła rozróżnianie izomerów w sieci molekularnej, wykrywanie sygnałów m/z do wizualizacji sieci molekularnej oraz ich możliwe zastosowanie w różnych modelach *in silico*. [30]

Cel naukowy

Przedstawione publikacje, wchodzące w skład mojego osiągnięcia naukowego i stanowiące podstawę o ubieganie się o stopień naukowy doktora habilitowanego, podsumowują moje dokonania w rozwoju technik spektralno-chromatograficznych w analizie fitochemicznej substancji roślinnych. W niektórych pracach technika ta była wiodącym narzędziem badawczym, w innych była jedną z kilku równoważnych, uzupełniających się technik, umożliwiając pogłębioną analizę.

Głównymi zadaniami badawczymi przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego były

- wyodrębnienie oraz szybkie selektywne oznaczanie głównych diterpenów o budowie nor-abietanu z korzeni gatunku *Perovskia atriplicifolia* Benth. przy zastosowaniu techniki tandemowej LC-ESI-MS/MS [P-1]
- wyodrębnienie oraz identyfikacja spektralna (LC-ESI-MS/MS, NMR) czterech nowych związków z grupy norditerpenoidów z korzeni gatunku *Perovskia atriplicifolia* Benth.; ocena aktywności wyizolowanych związków wobec enzymów cholinoesterazy w badaniach in vitro oraz modelu in silico; ocena toksyczności badanych związków z zastosowaniem wirtualnej platformy Pro Tox II [P-2]
- wyodrębnienie oraz identyfikacja spektralna (LC-ESI-MS/MS, NMR) związków z grupy izoflawonów oraz stilbenów z korzeni gatunku *Belamcanda chinensis*; ocena aktywności wyizolowanych związków wobec enzymów cholinoesterazy w badaniach in vitro oraz modelu in silico. [P-3]
- analiza chromatograficzna (LC-ESI-MS/MS), kompleksowa analiza jakościowa i ilościowa składu wyciągów przygotowanych z różnych części gatunku *Coleus amboinicus* Lour. uprawianych w różnych strefach klimatycznych; ocena potencjału antyoksydacyjnego tych wyciągów; ocena zawartości składników pokarmowych i ich strawności. [P-4]
- analiza chromatograficzna (LC-ESI-MS/MS), kompleksowa analiza jakościowa i ilościowa składu różnych wyciągów przygotowanych z surowca farmaceutycznego *Solidaginis herba* oraz ocena aktywności antyoksydacyjnej i potencjalnej mutagenności tego surowca. [P-5].

Uzyskane wyniki

1. Wyodrębnienie oraz szybkie selektywne oznaczanie głównych diterpenów o budowie nor-abietanoidu z korzeni gatunku *Perovskia atriplicifolia* Benth. przy zastosowaniu techniki tandemowej LC-ESI-MS/MS

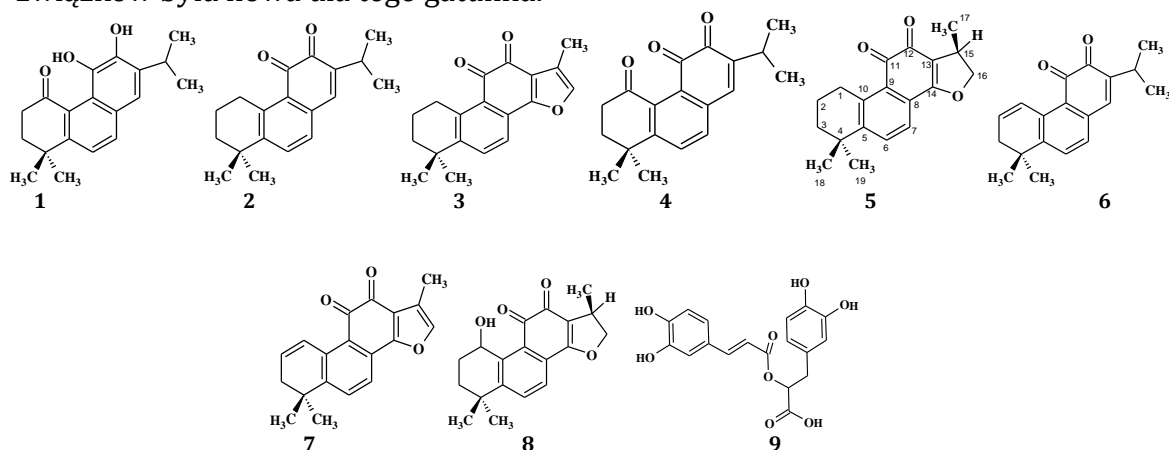
Perovskia to niewielki rodzaj roślin krzewiastych, blisko spokrewniony z rodzajem *Salvia*, na które składa się kilka gatunków naturalnie występujących na obszarze całej Azji Środkowej (głównie Afganistanu, Iranu, Turkmenistanu i Uzbekistanu). W aktualnie zmodyfikowanym ujęciu taksonomicznym rodzaju *Salvia*, jako obejmującego wszystkie rodzaje siostrzane [31], włączone do *Salvia* sp. w randze podrodzajów (subgenera), omawiana roślina znalazła się tam pod nazwą *Salvia yangii* BT Drew. Jednakże, dla utrzymania jednolitości nomenklatury z już opublikowanymi pod tą nazwą pracami, w niniejszym autoreferacie będzie dalej używany rodzaj *Perovskia*.

Perovskia łobodolistna jest rośliną leczniczą stosowaną w Pakistanie i Afganistanie [32]. W irańskiej medycynie ludowej jeden z gatunków pokrewnych *P. abrotanoides* Kar. (*Salvia abrotanoides* (Kar) Sytsma, lokalnie znany pod potoczną nazwą „brazambol”, jest stosowany przeciwko leiszmaniozie skórnej, również jako lek przeciwzapalny i środek przeciwbólowy głównie przy bólach reumatycznych oraz jako lek przeciwmalaryczny [33][34]. W przypadku *P.abrotanoides*, pod kątem fitochemicznym analizowano głównie część nadziemną w której dominowały związki fenolowe, lignany, triterpeny, sterydy i olejek eteryczny z mono- i seskwiterpenami [35][36]. Z kolei głównymi aktywnymi związkami korzeni *Perovskia* są diterpenoidy o strukturze nor-abietanu zwane tanszinonami, które są również

głównymi składnikami znanego chińskiego surowca „Danshen” (*Salvia miltiorrhizae rhizoma et radix*, leku farmakopealnego w Europie od 2012 r). Działania farmakologiczne tanszinońców obejmują wpływ na czynność serca, hamowanie reduktazy aldozowej, wiązanie z receptorami benzodiazepinowymi czy indukcją apoptozy [36][37][38].

W podrodzaju *Perovskia* tanszinońcy stwierdzono u *P. abrotanoides* [39], wśród których były również nietypowe tetracykliczne utlenione diterpeny; abrotanon i abrotandiol [35]. *P. scrophulariifolia* Bunge to kolejny gatunek z podrodzaju *Perovskia* o właściwościach leczniczych, głównie stosowany w Uzbekistanie a jego części naziemne są bogate w diterpenoidy typu abietanu [40]. *P. atriplicifolia* uprawiana jest na całym świecie jako roślina ozdobna pod nazwą Russian Sage. Wcześniejsze, skromne doniesienia naukowe o składzie fitochemicznym *P. atriplicifolia* dotyczyły głównie części naziemnej. [36][35][41], w której składzie oprócz licznych wyżej wymienionych związków wyizolowano nowy C23 diterpenoid, perowskiton A [42]. W czasie pracy nad tym gatunkiem nie znalazłem opublikowanej metody LC-MS do analizy diterpenoidów i związków polifenolowych z korzeni *P. atriplicifolia*. Z tego też względu, moim celem było opracowanie i zoptymalizowanie metody pozwalającej na szybką ocenę jakościową i ilościową głównych metabolitów wtórnych przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas z zastosowaniem monitorowania wybranych reakcji fragmentacyjnych [MRM-multiple reaction monitoring].

W pierwszej części moich badań wyodrębniłem, i zidentyfikowałem główne składniki diterpenoidowe z wysuszonego materiału poddanego ekstrakcji n-heksanem. Wstępny rozdział wyciągu heksanowego dokonałem na kolumnie wypełnionej żelazem krzemionkowym, a otrzymane w ten sposób frakcje podczyszczałem na podobnej kolumnie z zastosowaniem bardziej polarnych rozpuszczalników. Doczyszczanie przeprowadziłem na kolumnie ze złożem RP-18. W ten sposób otrzymałem siedem głównych związków o strukturze nor-abietanu; kryptotanszinoń, 1-hydroksykryptotanszinoń, miltiron, 1-oksomiltiron, tanszinoń IIa, 1,2 didehydrotanszinoń IIa, 1,2 didehydromiltiron oraz arukadiol a także kwas rozmarynowy jako główny związek fenolowy. (Rys.1) Tożsamość tych związków potwierdziłem metodą spektralną NMR. Większość wyizolowanych i analizowanych związków była nowa dla tego gatunku.



Rys.1 Struktura chemiczna wyizolowanych związków: arukadiol (1), miltiron (2), tanszinoń IIa (3), 1-oksomiltiron (4), kryptotanszinoń (5), 1,2 didehydromiltiron (6), 1,2 didehydrotanszinoń (7), 1βOH-kryptotanszinoń (8), kwas rozmarynowy (9)

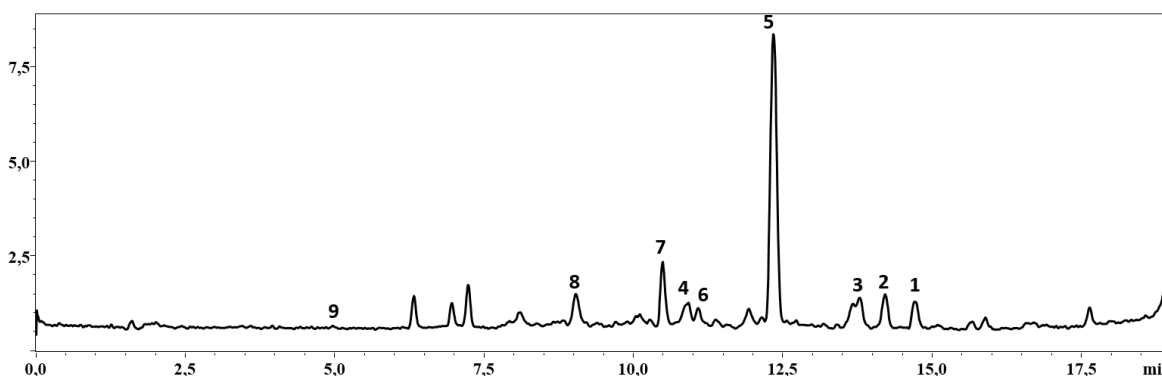
Wyizolowane związki wykorzystałem jako wzorce do szybkiego i selektywnego oznaczenie głównych diterpenów obecnych w surowym heksanowym wyciągu z

	Nazwa	Ion prekursorowy (m/z)	Ion potomny (m/z)	Energia kolizji (eV)	Kolejny fragment dla prekursora	Typ ionizacji
1	Arukadiol	299	281	-28	239	+
2	Miltiron	283	265	-20	240	+
3	Tanszinon IIa	295	277	-20	266	+
4	Oksomiltiron	297	269	-27	254	+
5	Kryptotanszinon	297	279	-25	251	+
6	1,2 didehydromiltiron	281	253	-23	221	+
7	1,2 didehydrotanszinon	293	275	-20	247	+
8	OH-kryptotanszinon	313	285	-33	267	+
9	Kwas rozmarynowy	359	161	18	197	-

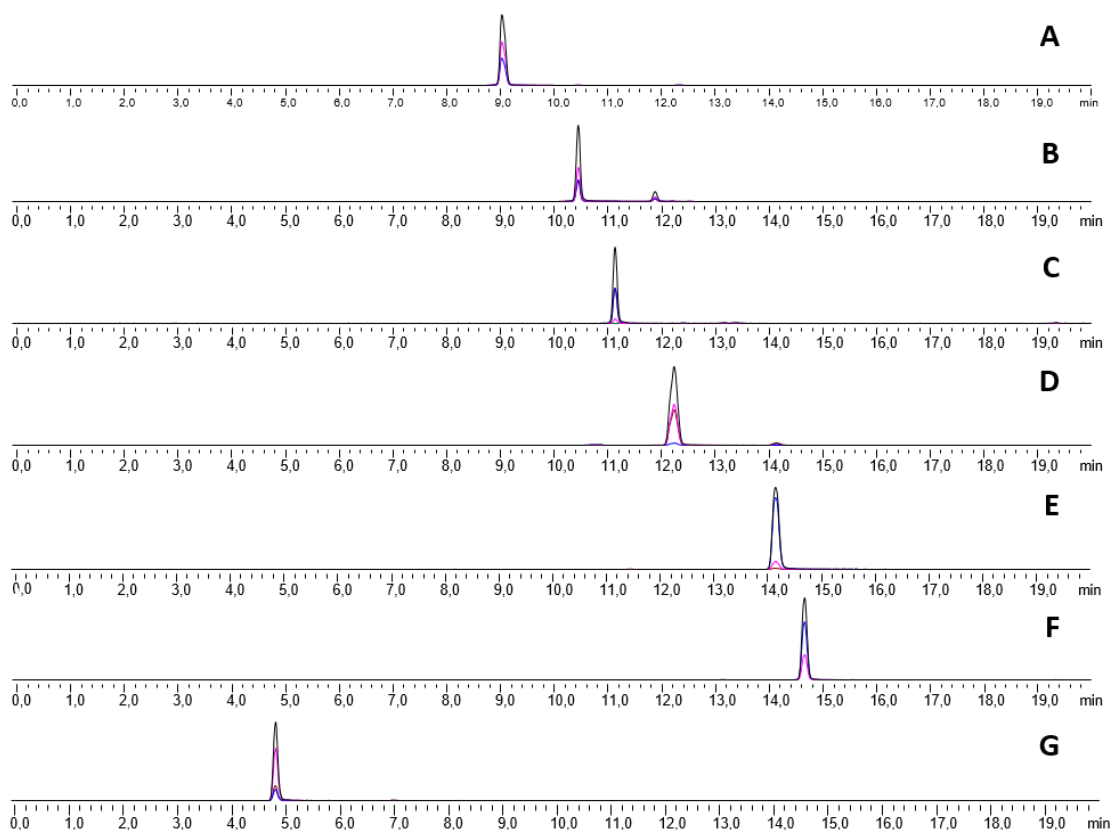
korzeni *P. atriplicifolia* metodą LC-MS/MS z użyciem detektora mas z potrójnym kwadrupolem (qQq). Identyfikację diterpenów potwierdziłem wykorzystując zoptymalizowany algorytm monitorowania wybranych reakcji fragmentacji (MRM) dla wyselekcjonowanej pary prekursor-jon potomny. W metodzie tej użyłem najbardziej reprezentatywnych przejść z jonów prekursorowych (Prec), do jonów potomnych przy odpowiednio dobranej energii potrzebnej do takich przejść. Dane te umieściłem w tabeli 1 (Tab. 1)

Tab.1 Zoptymalizowane parametry MS/MS dla poszczególnych związków.

Następnie, zoptymalizowałem przebieg rozdzielania na kolumnie analitycznej (UHPLC). W tym celu użyłem kolumny Kinetex C18 100A o parametrach (2.1 mm×100 mm, 2.6 μ) z prekolumną firmy Phenomenex. Rozdział prowadziłem w mieszaninie zakwaszonej wody i acetonitrylu. Udało mi się tak dobrać warunki by przy dobrym rozdziale skrócić czas analizy do 19 minut. Analizowana grupa związków lepiej jonizowała przy polarności dodatniej, dlatego ten tryb był podstawowy w monitorowaniu jonów i ich rozpadów na każdym etapie analizy. Kwas rozmarynowy natomiast w trybie ujemnym jonizował lepiej, dlatego w tym trybie był analizowany.



Rys. 2 UV Chromatogram ekstraktu heksanowego z korzeni *P.atriplicifolia*, z numerami identyfikacji poszczególnych związków.



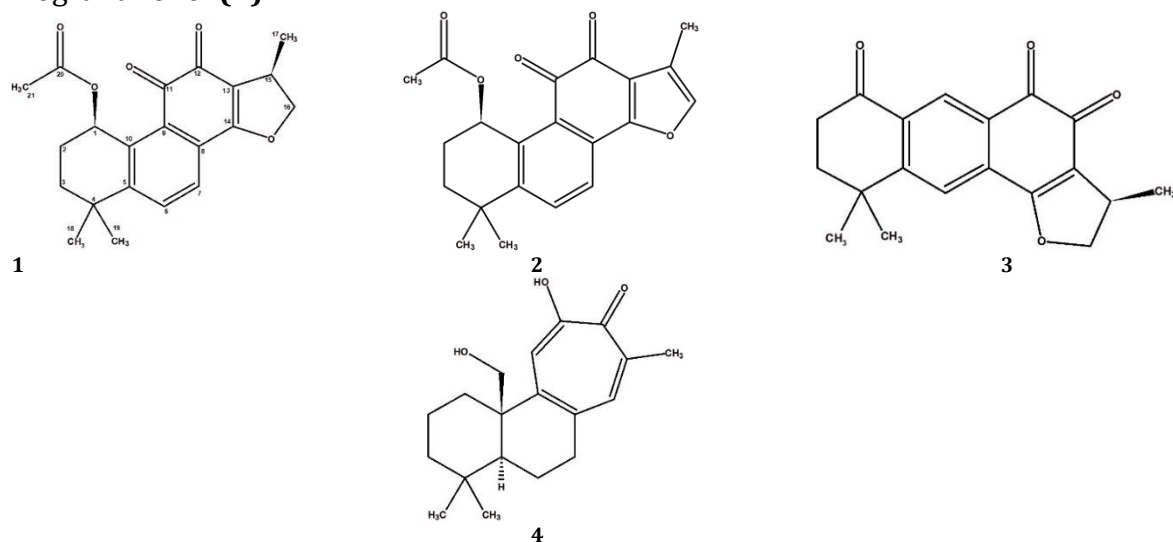
Rys. 3 Chromatogramy MRM (multiple reaction monitoring) dla związków z korzenia *P.atriplicifolia*. **A-F)**-tryb ionizacji pozytywny; **G)**-tryb ionizacji negatywny (m/z): (m/z przejścia) **A)** OH-kryptotanszynon(313-285-267), **B)** 1,2didehydrotanszynon IIa (293-295-247), **C)**1,2 didehydromiltiron, (281-253-221), **D)** kryptotanszynon (297-279-251), **E)** tanszynon IIa (295-277-266), **F)** miltiron (283-265-240) i **G)** kwas rozmarynowy (359-161-197)

Zoptymalizowana metoda MRM w połączeniu z dobranymi warunkami rozdzielania na kolumnie analitycznej HPLC posłużyły mi do oznaczenia ilościowego głównych diterpenów w ekstrakcie oraz głównego związku z grupy polifenoli, czyli kwasu rozmarynowego. Kryptotanszynon który był głównym z analizowanych diterpenów jest równocześnie substancją o dużym potencjale leczniczym. Wykazuje aktywność przeciwnowotworową działanie przeciwzapalne, neuroprotektoryjne, kardioprotektoryjne, antymetaboliczne i inne [32] a te różne efekty farmakologiczne odbywają się poprzez różne mechanizmy i szlaki sygnałowe. Jednym z tych mechanizmów jest aktywacja czynnika transkrypcyjnego Nrf2, który kontroluje ekspresję genów kodujących enzymy i białka cytoprotekcyjne. [43]

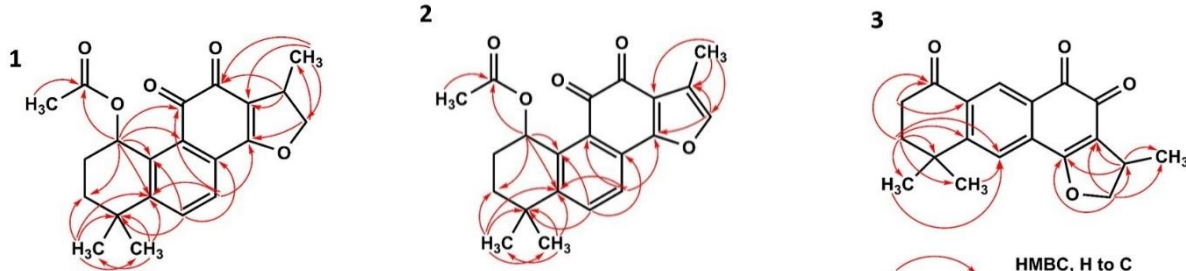
Wykazałem, że ta, stosunkowo łatwa w uprawie roślina, może być obiecującym źródłem kilku farmakologicznie cennych diterpenoidów abietanoidowych, w tym kryptotanszynonu jako występującego najobficiej. Dokładne dane dotyczące ilościowego oznaczenia zawiera tabela nr 3 publikacji P-1, dokładne dane spektrometryczne z analiz NMR zawarte są w materiale dodatkowym, które są uzupełnieniem dla publikacji P-1.

2. Wyodrębnienie oraz identyfikacja spektralna (LC-ESI-MS/MS, NMR) czterech nowych związków z grupy norditerpenoidów z korzeni gatunku *Perovskia atriplicifolia* Benth.; ocena aktywności wyizolowanych związków wobec enzymów cholinoesterazy w badaniach *in vitro* oraz modelu *in silico*; ocena toksyczności badanych związków z zastosowaniem wirtualnej platformy Pro Tox

Jak wskazały moje poprzednie badania, gatunek *P. atriplicifolia* jest bogaty w związki o strukturze diterpenów zwanych tanszinsonami. W toku dalszych prac nad tą rośliną udało mi się wyodrębnić i potwierdzić budowę trzech zupełnie nowych związków z grupy diterpenów abietanoidowych oraz jednego nowego dla tego gatunku. Materiałem wyjściowym tak jak poprzednio były wysuszone i rozdrobnione korzenie, poddane ekstrakcji n-heksanem. W trakcie izolacji związków zastosowałem różne techniki chromatograficzne, w tym chromatografię otwartego złoża, chromatografię półpreparatywną oraz wysokosprawną chromatografię cieczową. Wstępny rozdział wyciągu heksanowego wykonałem na kolumnie wypełnionej żelom krzemionkowym, a otrzymane w ten sposób frakcje podczyszczałem na podobnej kolumnie z zastosowaniem bardziej polarnych rozpuszczalników (dichlorometan z octanem etylu w różnych proporcjach). Doczyszczanie związków przeprowadziłem na kolumnie półpreparatywnej ze złożem RP-18. Strukturę wyodrębnionych związków potwierdziłem metodami spektralnymi (NMR jedno i wielowymiarowymi) oraz LC-ESI-MS/MS. W ten sposób otrzymałem substancje o strukturze nor-abietanu; (1*R*,15*R*)-1-acetoksykryptotanszinson (1), (1*R*)-1-acetoksytanszinson IIA (2), (15*R*)-1-oksoaegyptinon A (3), oraz izograndifoliol (4).



Rys. 4 Struktura nowych związków wyizolowanych z korzeni *P.atriplicifolia*



Rys. 5 Widoczne korelacje HMBC dla trzech nowych związków wyizolowanych z korzeni *P.atriplicifolia*

Związek (4) o nazwie izograndifoliol został wcześniej uzyskany jako jeden z 14 nowych norditerpenoidów z pokrewnego gatunku *Salvia* [44][45] i mimo, że uwzględniony jest w literaturze fitochemicznej jako terpenoid abietanu, ma przeorganizowaną strukturę, w ten sposób, że pierścień 6-węglowy i pierścień furanowy typowe dla tanszinsonów zastąpiony jest pierścieniem 7-węglowym.

Substancję nazwaną jako (1*R*,15*R*)-1-acetoksykryptotanszinson (1) wyodrębniłem w postaci czerwonego bezpostaciowego proszku. Przy pomocy spektrometru masowego

o wysokiej rozdzielczości (HRQTOF-MS) w trybie jonów dodatnich ustaliłem masę (m/z 355.1538 $[M+H]^+$), w połączeniu z danymi ^{13}C NMR wzór cząsteczkowy ustaliłem jako $C_{21}H_{22}O_5$ (wyliczona masa dla $C_{21}H_{23}O_5$: 355.1540). W widmie UV maksima absorpcji były przy 225, 270 i 441 nm. 1H i ^{13}C widma NMR wykazały 21 silnych sygnałów, które zidentyfikowałem jako; cztery pochodzące od grup metylowych rezonujące przy δH 1,99, 1,39, 1,28 (każdy 3H, s) i dublet przy δ 1,32 ($J = 6,8$ Hz, 3H), dwa węgle CH_2 przy δH 1,93 (1H, td, $J = 13,3, 2,6$ Hz)/1,59 (1H, ddd, $J = 13,3, 5,5, 2,5$ Hz), 2,13–2,19 (1H, m)/2,02 (1H, tdd, $J = 14,0, 3,5, 2,5$ Hz; δC 33,1, 25,5) i utleniony metylen przy δH 4,96 (1H, t, $J = 9,4$ Hz)/4,42 (1H, dd, $J = 9,3, 6,2$ Hz; δC 83,2), cztery węgle CH [dwa aromatyczne przy δH 7,84 (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 7,67 (1H, d, $J = 7,8$ Hz; δC 134,9, 126,4), przy $\delta H/\delta C$ 3,48–3,58 (1H, m)/35,7 i utleniona grupa metinowa $\delta H/\delta C$ 6,40 (1H, t, $J = 3,4$ Hz)/68,7] oraz trzy węgle karbonyłowe (dwa δC 184,5, 176,3 — tworzące ugrupowanie o-chinonowe — i jeden 171,8), jeden węgiel enolowy (δC 172,7) oraz sześć czwartorzędowych atomów węgla podzielonych na tetrapodstawiony pierścień benzenowy (δC 154,2, 138,1, 130,1, 128,3), jeden olefinowy (δC 119,6) i jeden alifatyczny (δC 35,9). Porównałem otrzymane dane NMR dla tego związku ze znanym 1β -hydroksykryptotanszinonem. Wyniki były bardzo zbliżone, z wyjątkiem obecności grupy acetylowej w nowym związku. Obecność grupy acetylowej została potwierdzona przez NMR dwuwymiarowe stosując korelacje HMBC (Rys.5). Można zakładać, że (1R,15R)-1-acetoksykryptotanszinon jest biosyntetyczną pochodną 1β hydroksykryptotanszinonu, ponieważ ma taką samą konfigurację absolutną przy C-1 i C-15, tj. 1R,15R, co potwierdziłem przez porównanie eksperymentalnego i obliczonego elektronowego dichroizmu kołowego (ECD) w których specyficzne rotacje miały te same znaki ($[\alpha]_D = +133,0$, w $CHCl_3$) i 1β hydroksykryptotanszynon ($[\alpha]_D = +235$, w $CHCl_3$)[45]. Tak więc potwierdziłem strukturę związku (**1**) i ustaliłem konfigurację absolutną ostatecznie jako (1R,15R)-1-acetoksykryptotanszinon.

Kolejny nowy związek (1R)-1-acetoksytanżynon IIA (**2**) otrzymałem w postaci czerwonych kryształów w kształcie igieł. Korzystając z wysokordzielczego spektrometru masowego (HR-QTOF-MS) w trybie jonów dodatnich ustaliłem masę tego związku jako (m/z 353.1385 $[M+H]^+$), a wyliczona dla $C_{21}H_{21}O_5$: wynosiła 353.1384). Widmo UV ujawniło absorpcję maksima przy 221, 250, 271 i 460 nm. Szczegółowa analiza widm 1H i ^{13}C NMR związku (**2**), podobnie jak to miało miejsce przy związku (**1**), wykazała 21 wyraźnych sygnałów węglowych, które zostały sklasyfikowane jako cztery pochodzące od grup metylowych rezonujące przy δH 2,01, 1,41, 1,31 (każdy 3H, s) i dublet przy δH 2,23 ($J = 1,2$ Hz, 3H), dwa węgle CH_2 przy δH 1,93 (1H, td, $J = 13,1, 2,4$ Hz)/1,58 (1H, ddd, $J = 12,9, 5,6, 2,8$ Hz), 2,13–2,19 (1H, m)/2,01 (1H, tt, $J = 14,1, 2,6$ Hz; δC 33,2, 25,6), cztery CH węgle z czego trzy aromatyczne przy δH 7,89 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,80 (1H, d, $J = 8,3$ Hz) i 7,48 (1H, q, $J = 1,3$ Hz; δC 135,7, 124,2, 143,6) i jeden utleniony metinowy w $\delta H/\delta C$ 6,41 (1H, t, $J = 3,4$ Hz)/69,8 ; trzy karbonyłowe (δC 183,8, 176,3 [tworzące ugrupowanie 1,2-chinonowe] i 172,2), jeden utleniony aromatyczny węgiel (δC 162,7), siedem czwartorzędowych atomów węgla podzielonych w ten sposób, że 4 w tetrapodstawionym pierścieniu benzenowym (δC 151,9, 138,7, 129,6, 128,2, w trójpodstawionym pierścieniu furanowym (δC 122,3, 121,1) i jeden węgiel alifatyczny (δC 35,8). Właściwości spektroskopowe NMR dla związku (**2**) były podobne do (1S)-hydroksytanżynonu IIA, wyizolowanego i opisanego przeze mnie wcześniej [46], Otrzymane wyniki wskazują na podobieństwo struktury chemicznej do (1S)-hydroksytanżynonu IIA z wyjątkiem obecności w związku (**2**) jednej grupy acetylowej zlokalizowanej przy węglu C-1. Miejsce acylacji potwierdziłem przez technikę 2D NMR (HMBC-Rys.5) korelacje grupy metylowej (δH 2,01) i H-1 (δH 6,41) z grupą karbonyłową przy węglu (δC 172,2), dodatkowo widać było znaczne ($\Delta\delta +4,9$) odsłonięcie przy C-1 (δC 69,0) i znaczne ($\Delta\delta -$

2,6, -1,4 i -4,9) ekranowanie przy C-2/C-11/C-10 (δ C 25,6, 183,8 i 138,7), odpowiednio, w porównaniu ze związkami (1S)-hydroksytanszynonem IIA. Konfigurację absolutną związku **(2)** ustaliłem poprzez porównanie eksperymentalnych i obliczonych krzywych elektronowego dichroizmu kołowego (ECD). Jednakże, nie odnotowałem skręcalności optycznej tej samej co dla związku (1S)-hydroksytanszynonu IIA, była ona u przeciwna i wynosiła ($[\alpha]_D = +203,0$, w CHCl₃), która z kolei była podobna do związku pokrewnego (1R)- hydroksymiltironu ($[\alpha]_D = +989,1$, w CHCl₃) opisanym bliżej w publikacji [47]. Ostatecznie zatem strukturę związku **(2)** ustaliłem jako (1R)-1-acetoksytanszynon IIA.

Kolejny nowy związek, 1-oksoaegyptinon A **(3)** otrzymałem w postaci czerwonych kryształowych igieł. Zgodnie z moimi danymi eksperymentalnymi z HR-QTOF-MS w trybie jonów dodatnich ustaliłem jego wzór cząsteczkowy jako C₁₉H₁₈O₄ co odpowiadało masie (m/z 311.1277 [M+H]⁺, a masa wyliczona dla C₁₉H₁₉O₄ wyniosła 311.1278). Widmo UV wykazało maksima absorpcji przy 224 i 290 nm. Szczegółowa analiza widm ¹H i ¹³C NMR związku **(3)** wykazała 19 wyraźnych sygnałów węglowych, które zaklasyfikowano jako trzy pochodzące od grup metylowych [δ H 1,352, 1,350 (każdy 3H, s) i dublet przy δ 1,347 przy J = 6,9 Hz, 3H], trzy od węgli CH₂ [δ H 2,10 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,90 (2H, t, J = 7,2 Hz); C 37,5, 37,3), z utlenionym metylenem (δ H 5,01 (1H, t, J = 9,6 Hz)/4,48 (1H, dd, J = 9,5, 6,2 Hz); δ C 83,6)], trzy węgle CH [dwa aromatyczne przy δ H 7,78 (2H, nakładające się); ¹³C 131,7, 128,2 i jeden alifatyczny w δ H/ δ C 3,54 – 3,64 (1H, m) / 35,8] i dziesięć czwartorzędowych atomów węgla podzielonych na trzy karbonyłowe (δ C 201,8, 184,9, 178,9), tetrapodstawiony pierścień benzenowy (δ C 157,9, 138,7, 134,2, 128,6), dwa olefinowe (δ C 172,0, 120,4) i jeden alifatyczny (δ C 36,4). Dane spektralne dla związku **(3)** sugerują, że może to być izomer 1-oksokryptotanszynonu, o rdzeniu podobnym do aegyptinonu A, z nieobecną jedną grupą metylową i dodatkową grupą karbonyłową. [48] Obecność tych ostatnich potwierdziłem (Rys.5) korelacją HMBC od H-2/H-3 (δ H 2,90/2,10) do C-1 (δ C 201,8) oraz charakterystycznymi przesunięciami chemicznymi węgli C-2/C-3 (δ C 37,3/ 37,5) były podobne do tych z 1-oksokryptotanszynonu (odpowiednio 36,4/37,6). Zaobserwowałem jednak szereg różnic między 1-oksokryptotanszynonem a 1-oksoaegyptinonem A. Mianowicie – węgiel C-5, odpowiadający węglowi C-10 w 1-oksokryptotanszynonie (δ C 138,7), uległ znacznemu przesunięciu ($\Delta\delta +9,3$), podczas gdy C-9 był przesunięty w górę pola ($\Delta\delta -6,4$). Dodatkowo zaobserwowałem znaczące ($\Delta\delta +9,1$, oba) odsłonięcie węgli C-11/C-12 (odpowiednio δ C 184,9/178,9) w porównaniu z 1-oksokryptotanszynonem. W widmie ¹H NMR ortosprężone protony H-6/H-7 zostały zastąpione parą *para*-protonów przy δ H 7,78 korelując w widmie HMBC z różnymi węglami C-1/C-4/C-5/C-6/C-8/C-9/C-11/C-14 (δ C 201,8./36,4/138,7/157,9/128,6/134,2/184,9/172,0). Z drugiej strony widmo HMBC dla 1-oksokryptotanszynonu nie wykazało korelacji z C-11. Pozycja C-7 (δ C 131,7) została wykazana na podstawie korelacji dalekiego zasięgu (4j) (od H-3) widocznej w widmie HMBC dostrojonym do $nJ_{CH} = 3$ Hz. Na podstawie tych danych ustaliłem, że związek **(3)** musi mieć płaską strukturę. Stereochemie absolutną przy C-15 ustaliłem jako R, na podstawie skręcalności optycznej ($[\alpha]_D = -3,8^\circ$, w CHCl₃), podobnie jak w przypadku bliskich analogów 3-aegyptinonu A ($[\alpha]_D = -102,0^\circ$, w CHCl₃) i 1-oksokryptotanszynonu ($[\alpha]_D = -59,3^\circ$, CHCl₃) [45]. Ten nor-abietan ma strukturę tricykliczną przeorganizowaną w liniową postać, przypominając w ten sposób strukturę antrachinonu. Dlatego też niektóre jego właściwości farmakologiczne mogą być związane z tą klasą fitochemiczną o całkowicie różnym pochodzeniu biosyntetycznym. Jest to pierwszy zapis związku z płaskim szkieletem tricyklicznym w *P.atriliplificolia*, potwierdzający, że roślina ta jest cennym źródłem unikalnych diterpenoidów, obok wyizolowanych wcześniej perowatonów i wielu innych podstawionych pochodnych abietanu [49][50]. Obecnie

wyduje się, że tego typu unikatowe strukturalnie związki ograniczają się do niektórych gatunków z rodzaju *Salvia* rozszerzonego, a wiedza na temat ich właściwości farmakologicznych jest znikoma[51].

Tożsamość substancji (**4**) o nazwie izograndifoliol potwierdziłem spektralnie (NMR i HRQ-TOF-MS) a wyniki uzyskane porównałem z tymi literaturowymi. [44]. Ilości dla poszczególnych związków, które uzyskałem okazały się wystarczające do odpowiednich badań farmakologicznych. Dlatego też w niniejszej pracy poza opracowaniem protokołu izolacji i ustaleniem struktury wyżej opisanych związków sprawdziłem ich hamującą aktywność w modelu *in vitro* dla enzymów acetylocholinoesterazy (AChE) i butyrylcholinoesterazy (BChE). Dodatkowo badania te poszerzyłem o dokowanie molekularne w celu zrozumienia mechanizmów interakcji między wyizolowanymi związkami a enzymami AChE i BChE.

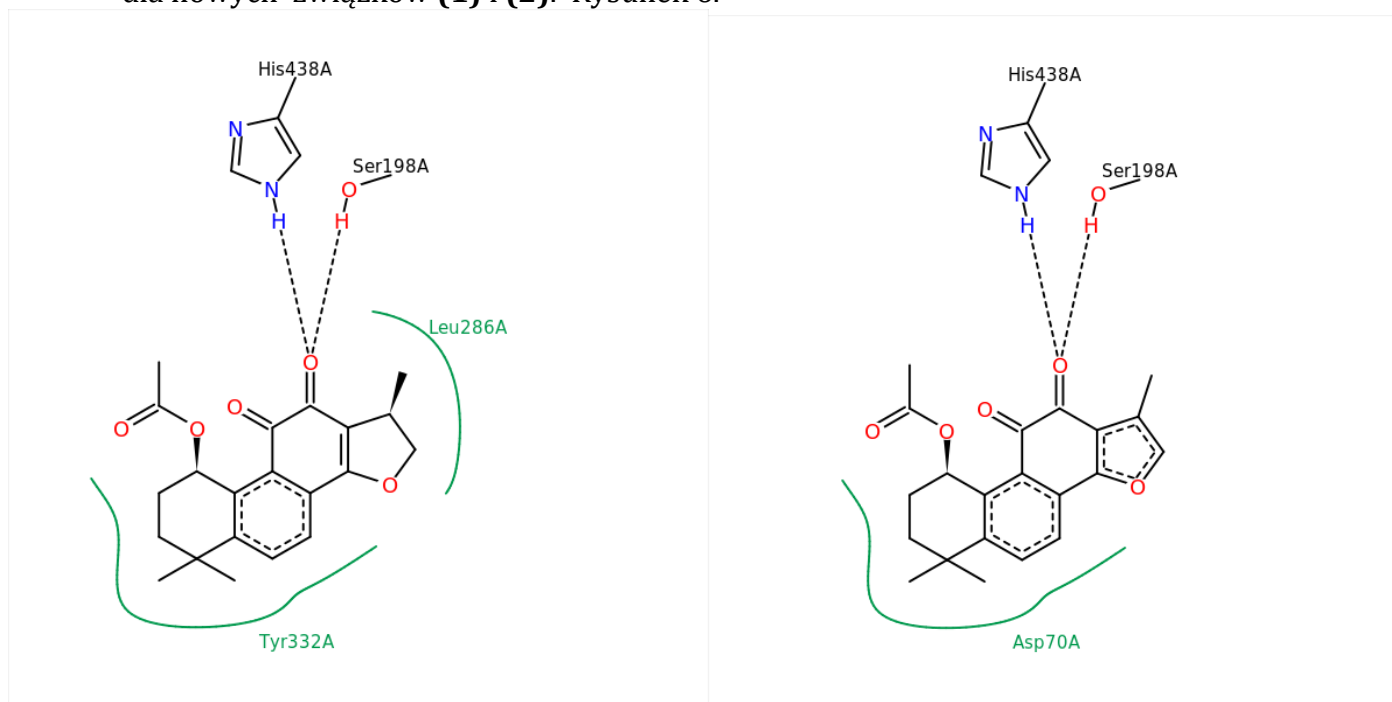
Inhibitory acetylocholinesterazy (AChE), takie jak donepezil, galantamina, rywastygmina i takryna, są najczęściej przepisywanymi lekami stosowanymi w celu spowolnienia postępu zaburzeń funkcji poznawczych w chorobach neurodegeneracyjnych.[52] Z kolei butyrylcholinesteraza (BChE) to kolejny enzym z rodziny cholinesteraz ujawniający się w późnych stadiach choroby Alzheimera i kumulujący się w blaszkach amyloidowych (A β) [53]. Jest również uważany za ważny cel działań, które przybliżą nas do odkrycia nowych leków przeciw demencji. Istnieją doniesienia o podobieństwie działania inhibitorów BChE ze znanymi lekami przeciw AChE stosowanymi w celu spowalniania rozwoju objawów otępieniowych. [54]. Niektóre klinicznie stosowane leki, takie jak rywastygmina, hamują obie formy enzymu, które są produktami różnych genów, ale mają podobne formy molekularne i miejsca aktywne. Obecnie nie ma ustalonego podejścia do zapobiegania lub leczenia choroby Alzheimera, dlatego stosowanie inhibitorów ChE w leczeniu objawów pogorszenia funkcji poznawczych, takich jak zaburzenia pamięci i percepcji jest ważnym podejściem terapeutycznym.[55] Rośliny lecznicze i naturalne związki pozostają bogatym zasobem takich inhibitorów wśród których na szczególną uwagę zasługują diterpenoidy. Poprawa funkcji poznawczych poprzez hamowanie cholinesterazy może mieć również szersze zastosowanie jako forma terapii uzupełniającej, na przykład podczas stresu o różnej etiologii lub jako środek pomocny w leczeniu uzależnień np. od nikotyny[56].

Udowodniłem, że wszystkie cztery wyizolowane substancje hamowały obie formy cholinesterazy (Tabela 2).

Tab. 2 Hamowanie cholinesterazy (AChE i BChE) przez cztery wyizolowane związki i ich zawartość (mg g⁻¹ s.m.) w korzeniach *Perovskia atriplicifolia*.

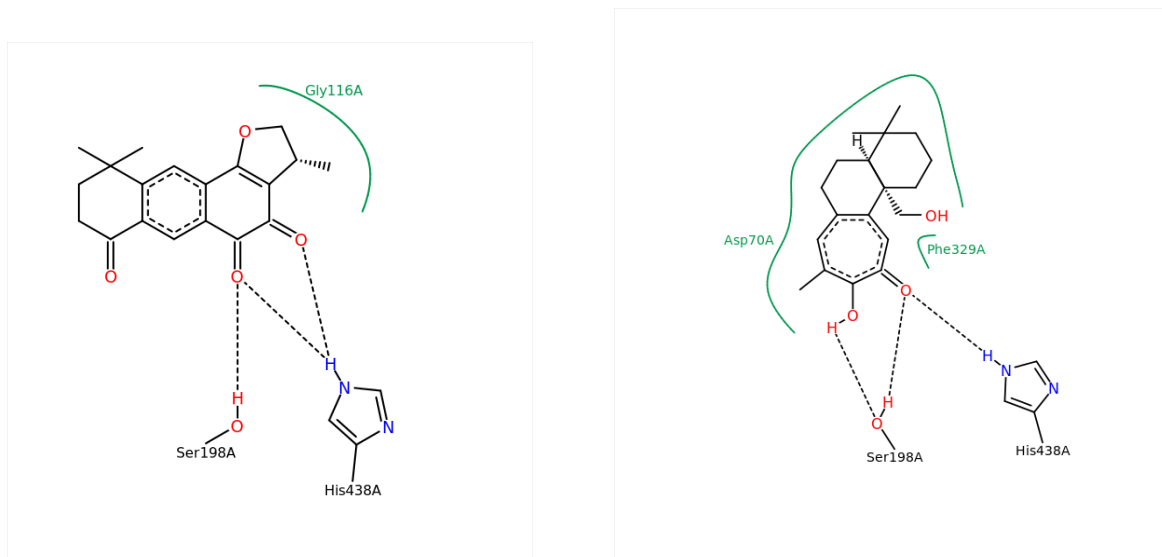
Substancja	% zachamowania \pm S.D. 10.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$		BChE inhibition IC ₅₀		K _i app*	Ilość w korzeniu mg (100 g) 1
	AChE	BChE	$\mu\text{g mL}^{-1}$	μM	μM	
Acetoksykryptotanszinon	22.8 \pm 2.4	95.9 \pm 0.0	0.84 \pm 0.09	2.37	1.34	28.5 \pm 2.5
Acetoksytanszinon IIa	28.0 \pm 0.9	85.3 \pm 4.3	2.77 \pm 0.48	7.86	4.59	8.1 \pm 0.4
1-oksoegyptinon A	49.6 \pm 1.8	87.3 \pm 1.0	15.75 \pm 1.1	50.80	30.0	21.3 \pm 0.7
Izograndifoliol	50.0 \pm 1.8	98.6 \pm 0.0	0.27 \pm 0.02	0.89	0.47	302.0 \pm 9.1
Galanthamine hydrobromide	97.2 \pm 2.9	86.8 \pm 2.9	28.16 \pm 1.5	76.4	---	-----

Istniały jednak różnice zarówno między aktywnością, jak i specyficnością wobec form enzymu. Związek **(1)** hamował aktywność BChE w 95,89%, związek **(2)** w 85,34%, związek **(3)** w 87,34%, a izograndifoliol **(4)** w 98,6%, podczas gdy hamowanie AChE nie przekraczało 50% we wszystkich przypadkach. Izograndifoliol **(4)** był najsilniejszym i selektywnym inhibitorem BChE, z IC_{50} poniżej jednego mikromola, podczas gdy IC_{50} dla AChE było powyżej 340 μM ($103,73 \pm 4,49 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Dlatego uważam, że izograndifoliol należy do jednych z najsilniejszych nieazotowych inhibitorów BChE, pozyskanych ze źródeł roślinnych w porównaniu z większością związków naturalnych, dla których wartości podawane w literaturze rzadko kiedy spadają poniżej 10 μM . [57] Dla porównania kilka związków norabietanoidowych, które wyizolowałem z tego samego gatunku we wcześniejszych badaniach wykazywały około trzy do czterech razy słabsze działanie [58]. Z drugiej strony, substancje **(1)** i **(2)** były równie silne jak poprzednio wyizolowane hydroksylowane pochodne (1β -OH-kryptotanszino z *P. atriplicifolia* i (1S)-OH-tanszinon IIA z *Salvia glutinosa*), które można uznać za nieacetylowane formy związków **(1)** i **(2)**. Sugeruje to niewielką rolę ugrupowania acetylowego w tego rodzaju aktywności. Dokowanie molekularne również potwierdza to założenie, gdzie zaobserwowano brak silnych interakcji grupy acetylowej z miejscem aktywnym enzymu dla nowych związków **(1)** i **(2)**. Rysunek 6.



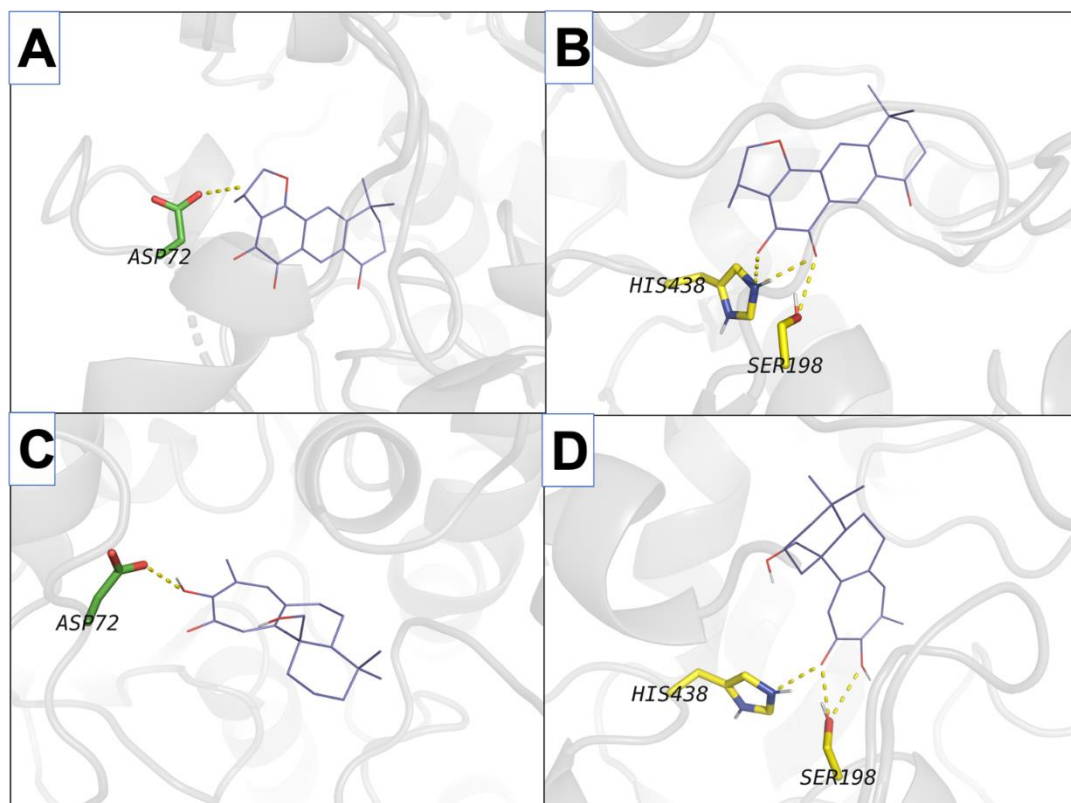
Rys. 6 Dwuwymiarowy obraz głównych interakcji ustalonych między substancją **(1)** i **(2)** a BChE. Zielona linia ciągła reprezentuje oddziaływania hydrofobowe, a czarne linie przerywane odpowiadają wiązaniom wodorowym.

Analogicznie miejsca i rodzaj oddziaływań ustalono dla substancji **(3)** i **(4)** Rysunek poniżej.

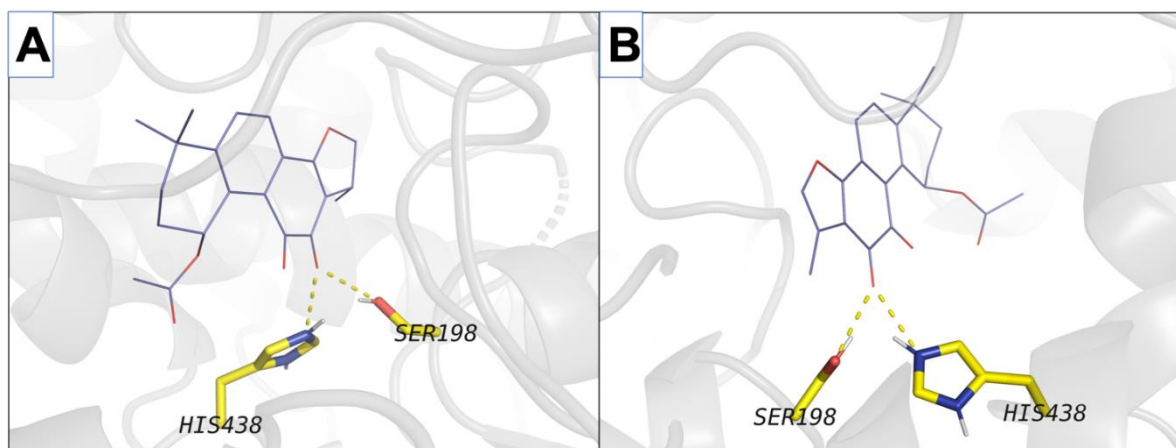


Rys. 7 Dwuwymiarowy obraz głównych interakcji ustalonych między substancją **(3)** i **(4)** a BChE. Zielona linia ciągła reprezentuje oddziaływania hydrofobowe, a czarne linie przerywane odpowiadają wiązaniom wodorowym.

Nowy liniowy, antrachinonopodobny abietanoid **(3)** był mniej aktywny, ale także mniej selektywny wobec BChE, hamując aktywność AChE w 50% ($IC_{50} = 102,30 \pm 3,18 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; $329,8 \mu\text{M}$), podobnie jak izograndifoliol. W celu zrozumienia możliwych mechanizmów działania aktywności hamującej wobec enzymów ChE na poziomie molekularnym przeprowadzono *in silico* eksperymenty z dokowaniem. (Rys 8 i 9) Wszystkie nowo wyizolowane związki oddziałują z oboma docelowymi białkami z zaznaczeniem wyższego powinowactwa wobec BChE w porównaniu do AChE. *In vitro*, spośród badanych związków najwyższą aktywność wykazywał izograndifoliol ($IC_{50} 0,89 \mu\text{M}$); to był także najbardziej specyficzny inhibitor BChE, pomimo widocznego ogólnego podobieństwa struktury do galantaminy. Trzy najbardziej znane substancje hamujące AChE stosowane w terapii choroby Alzheimera to rywastygmina, donepezyl i galantamina. Takryna również zaliczana do tej grupy leków, niestety musiała być wycofana z rynku farmaceutycznego ze względu na swoją hepatotoksyczność.



Rys. 8 Interakcje wyizolowanych związków (fioletowy szkielet), które oddziałują zarówno z AChE, jak i BChE, w przezroczysty szary sposób rysunkowy. Lewa kolumna (A, C) odpowiada AChE, a prawa kolumna (B, D) BChE. Pierwszy i drugi rząd odpowiadają odpowiednio 1-oksoegyptinonowi (A, B) i izograndifoliolowi (C, D). Pozostałości są zabarwione zgodnie z ich obszarem wiązania na żółto (triada katalityczna) i na zielono (obwodowe miejsce anionowe). Wiązania wodorowe ustanowione między związkami i przedstawionymi resztami są pokazane za pomocą ciemnożółtych linii przerywanych.



Rys. 9 Interakcje wyizolowanych związków (fioletowy szkielet), które oddziałują tylko z BChE, w przezroczysty szary sposób rysunkowy. Pokazane związki to acetyloksykryptotanszinon (A) i acetyloksytanszinon IIa (B). Pozostałości są zabarwione zgodnie z ich obszarem wiązania na żółto (triada katalityczna) i na zielono (obwodowe miejsce anionowe). Wiązania wodorowe ustanowione między związkami i przedstawionymi resztami są pokazane za pomocą ciemnożółtych linii przerywanych.

Co ciekawe, związek **(3)** pod względem struktury chemicznej wykazuje podobieństwo do takryny (aminotetrahydroakrydyny), jednak jego aktywność na

poziomie IC₅₀ 50,80 μM wobec BChE i 342 μM wobec AChE, czyni go najmniej specyficznym spośród reszty wyizolowanych przez mnie substancji. Główną różnicą jest obecność pierścienia furanowego w (15R)-1-oksoaegyptinonie A (**3**) zamiast reszty aminowej w strukturze takryny. Aegyptinon A - znany związek i jednocześnie analog (15R)-1-oksoaegyptinonu A (**3**), wyizolowany z kłączy *Salvia tebesana* Bunge, wykazywał umiarkowaną cytotoksyczność wobec kilku linii komórek rakowych [29]. Związek (**1**), z wartością IC₅₀ wobec BChE 2,37 μM, również wykazuje potencjał jako bloker tego białka. Nieco mniej aktywny był związek (**2**) o wartości IC₅₀ 7,86 μM. Co ciekawe, BChE ma również odgrywać rolę w agregacji białka Aβ (amyloidu β) we wczesnych stadiach tworzenia blaszek starczych przy chorobie Alzheimera [32]. Te dwa związki (**1-2**) wykazują niską aktywność anty-AChE w badanych stężeniach. Selektowność badanych ligandów dla BChE względem AChE jest prawdopodobnie spowodowana możliwością dopasowania i wykorzystania dodatkowej przestrzeni w miejscu aktywnym. Obecność reszt aktywnych leżących na dnie głębokiego na 20 Å hydrofobowego zagłębienia BChE została ujawniona patrząc na jego trójwymiarową strukturę [32]. Analiza strukturalna wyników dokowania dla czterech badanych związków, dla których obliczono IC₅₀, przedstawiono na rysunkach 7 i 6, które pokazują reprezentacyjne miejsca aktywnego enzymu z zadokowanymi związkami mającymi podkreślone wiązania wodorowe. Inhibitory podwójnego miejsca wiązania czyli związki, które mogą wchodzić jednocześnie w interakcje z miejscem katalitycznym (CAS) i obwodowym miejscem anionowym (PAS) enzymu – są potencjalnymi inhibitorami zarówno aktywności ChE, jak i agregacji Aβ [33,34]. W badanej szczegółowo pozycji dokowania, mogliśmy zaobserwować kierunkowość sieci ustalonego wiązania wodorowego. Reszty triady katalitycznej (CAS- kolor żółty) i obwodowe miejsce anionowe (PAS- kolor zielony) biorą udział w procesie tworzenie głównych wiązań wodorowych z badanymi związkami. Dlatego badane związki blokują dostęp do kluczowych reszt biorących udział w normalnym funkcjonowaniu enzymu, takich jak części triada katalityczna i PAS. Ponadto interakcje izograndifoliolu (**4**) z BChE wynikają ze znaczącego udziału reszt hydrofobowych, podczas gdy ligand jest dodatkowo wewnątrznie stabilizowany kierunkowymi wiązaniami wodorowymi z Ser198 i His438. Ten rodzaj interakcji może wyjaśniać wyraźnie silniejsze hamowanie BChE przez izograndifoliol (**4**) i stosunkowo słabsze wiązanie (15R)-1-oksoaegyptinonu A (**3**). Podobne znaczenie reszt hydrofobowych w stabilizacji ligandu w miejscu aktywnym BChE zaobserwowano również u hiperforyny i kilku prenylowanych flawonoidów chmielu. [33,34].

Potencjalną toksyczność nowych związków określiłem, korzystając z prognozy specjalnej platformy internetowej ProTox-II. Dzięki tej platformie ustaliłem, że żaden ze związków nie powinien wykazywać cytotoksyczności. Związki (**1**) i (**3**) należą do klasy 3 toksyczności ostrej (działa toksycznie po połknięciu dla wartości LD50 mniejsze niż 300 mg/kg), a związki (**2**) i (**4**) należą do 4 klasy toksyczności ostrej (szkodliwe po połknięciu dla wartościami LD50 mniejszymi niż 2000 mg/kg). Dodatkowo związki 1, 2 i 3 zostały zaklasyfikowane do silnie immunotoksycznych. Związek 4 wykazał średnie podobieństwo 73,25% i 72,37% do znanych ligandów toksyczności wobec receptorów glukokortykoidowych i progesteronu. Dzięki tej platformie przewiduje się, że związek 2 jest inhibitorem CYP2C9, a związek 4 ma być inhibitorem CYP3A4 i CYP2C9. Oczywiście te właściwości powinny być potwierdzone w adekwatnych modelach *in vitro*.

Podsumowując, praca ta jest przykładem połączenia metod analizy chromatograficznej wzajemnie się uzupełniających, umożliwiających rozdział nawet najbardziej złożonych mieszanin związków naturalnych z bioaktywnością i mechanizmami wyjaśniającymi aktywność tych związków w kontekście oddziaływań z

enzymami ChE. Isograndifoliol, który przekroczył 0,3 % suchej masy korzenia, bez wątpienia jest ważnym składnikiem tego surowca i przez wzgląd na swoją aktywność wobec tych enzymów wymaga dalszych badań w tym kierunku.

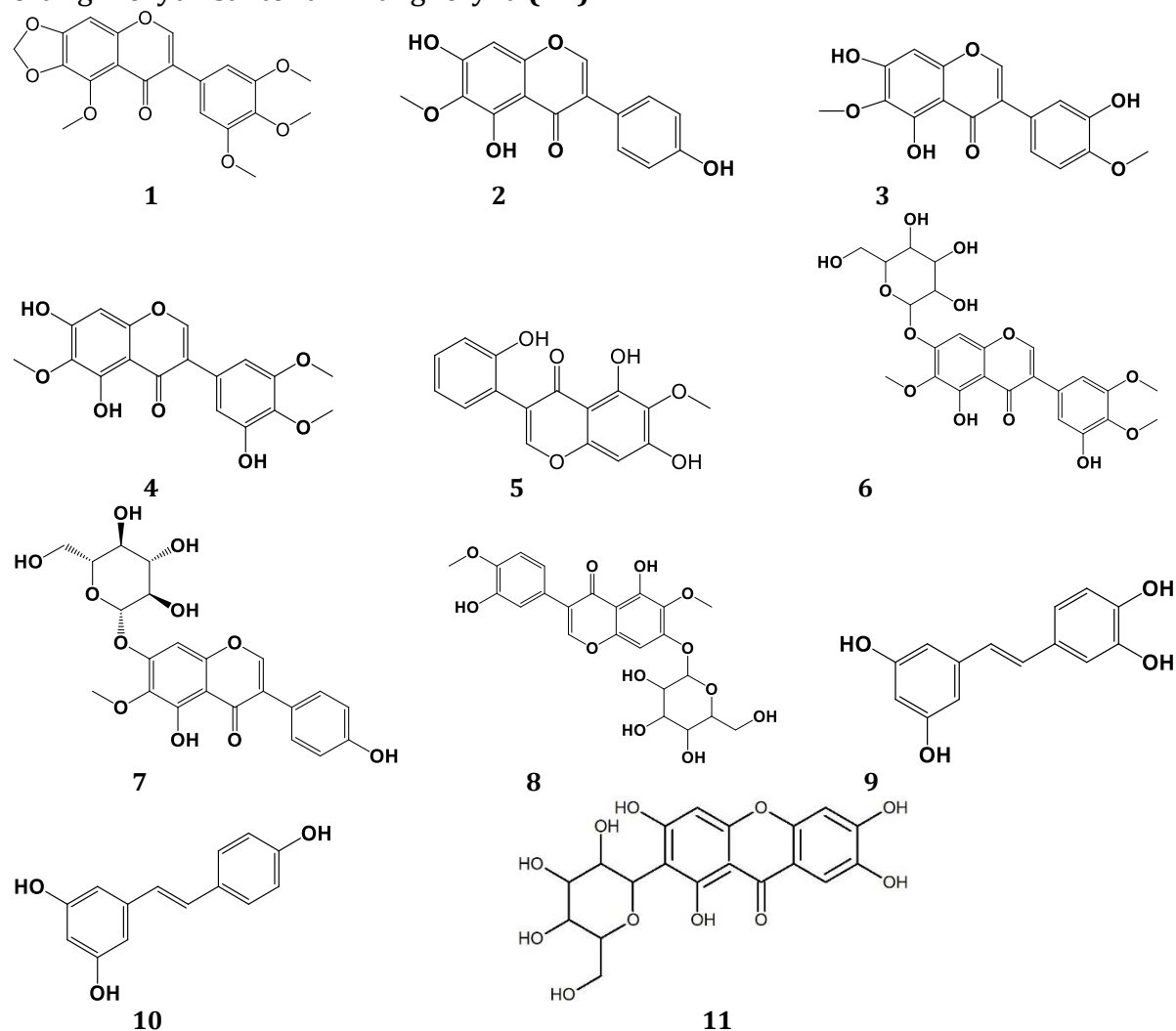
3. Wyodrębnienie oraz identyfikacja spektralna (LC-ESI-MS/MS, NMR) związków z grupy izoflawonów oraz stilbenów z *Belamcandae chinensis rhizoma* oraz ocena aktywności wyizolowanych związków wobec enzymów cholinoesterazy w badaniach *in vitro* oraz modelu *in silico*.

Kolejnym ciekawym gatunkiem rośliny leczniczej, która stała się częścią mojej pracy naukowej jest *Iris domestica* (L.) Goldblatt i Mabb., znana też pod nazwą *Belamcanda chinensis* (L.) DC. (Iridaceae). Gatunek ten naturalnie występuje w Azji Południowej i Wschodniej (Chiny, Korea). Pomimo tego, że dawny monotypowy rodzaj *Belamcanda* został zaliczony do rozszerzonego rodzaju *Iris*, klasyfikacja ta została zakwestionowana [59], [60] Aby uniknąć niejednoznaczności nazewnictwa, zamiast pełnej nazwy dwumianowej (*I. domestica*), wymienionej m.in. w Farmakopei Polskiej (Europejskiej), będzie używana powszechnie uznana farmakognostyczna nazwa surowca *Belamcandae chinensis rhizoma*. Pod taką nazwą surowiec ten funkcjonuje w tradycyjnej azjatyckiej fitoterapii, znany tam również pod nazwą *She Gan*. Surowiec wykazuje szereg właściwości farmakologicznych z których główne to te przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, przeciwosteoporotyczne, estrogenne, przeciwalergiczne, przeciwastmatyczne, cytotoksyczne i przeciwdrobnoustrojowe [61], [62]. Oprócz farmakopei chińskiej, koreańskiej i kilku innych azjatyckich, również Farmakopea Europejska od kilku lat prowadzi monografię surowca tej rośliny, co świadczy o jej rosnącej popularności i użyteczności na całym świecie. Główną klasą związków odpowiedzialnych za tak szerokie spektrum działania tego surowca są polifenole, a wśród nich izoflawony, ksantony, stilbeny i kwasy fenolowe. Kilka cytotoksycznych irydałowych triterpenów również przyczynia się do ogólnego profilu fitochemicznego rośliny [61]. W dostępnej literaturze naukowej można znaleźć różne metody izolacji i identyfikacji głównych składników tego surowca. Z drugiej strony nadal istnieje pewien stopień niespójności i niejasności w ocenie składu. Pomimo wcześniejszych doniesień wykazujących brak aktywności anty-AChE ekstraktu metanolowego z *she-gan* [63], więc postawiłem hipotezę, że poszczególne polifenole ze względu na swoje cechy strukturalne mogą wykazywać taką aktywność, również wobec BChE. Wykazano, że tektorygenina ma działanie przeciw neurozapalne, a pokrewne gatunki *Iris* były aktywne przeciwko cholinoesterazom [64].

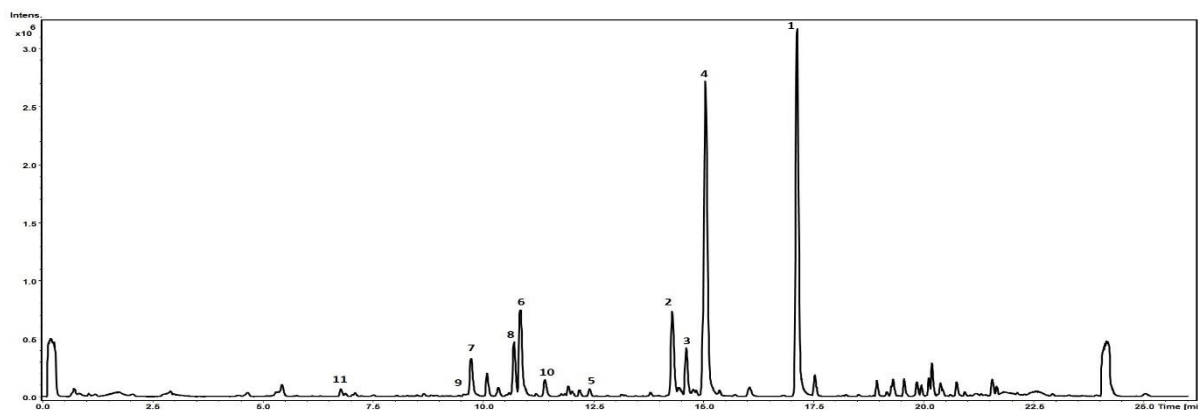
Celem przeprowadzonych przeze mnie badań było opracowanie i optymalizacja metody izolacji i identyfikacja związków polifenolowych z kłącza belamkandy chińskiej, oraz badanie ich bioaktywności w kierunku hamowania *in vitro* dwóch enzymów cholinoesterazy - BChE i AChE. Przeprowadzono również dokowanie molekularne, w którym oceniono najbardziej aktywne spośród wyizolowanych związków, w celu określenia możliwych interakcji z tymi enzymami.

Do badań wykorzystałem materiał pochodzący z upraw Ogrodu Botanicznego Roślin Leczniczych przy Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. (dokładne dane dotyczące materiału zawarłem w sekcji materiały i metody publikacji P-3). W trakcie izolacji związków zastosowałem różne techniki chromatograficzne w tym chromatografię otwartego złoża, chromatografię półpreparatywną oraz wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas. Wstępny rozdział wyciągu metanolowo wodnego dokonałem na

kolumnie wypełnionej żelem krzemionkowym, a otrzymane w ten sposób frakcje podczyszczałem na podobnej kolumnie z zastosowaniem bardziej polarnych rozpuszczalników (dokładne dane z procesu izolacji związków umieściłem w sekcji materiały i metody publikacji P-3). Strukturę wyodrębnionych związków potwierdziłem metodami spektralnymi (NMR jedno i wielowymiarowymi) oraz LC-ESI-MS/MS. W ten sposób otrzymałem osiem związków z grupy izoflawonów: irisflorentyna (**1**), tektorygenina (**2**), iristektorigenina B (**3**), irigenina (**4**), irilina B (**5**), iridyna (**6**), tektorydyna (**7**) i iristektoryna B (**8**), dwa stilbeny; piceatannol (**9**) i resweratrol (**10**) oraz glikozyd ksantonu – mangiferyna (**11**).



Rys.10 Struktura wyizolowanych związków z korzeni *Belamcanda chinensis*, z numerami identyfikacji poszczególnych związków

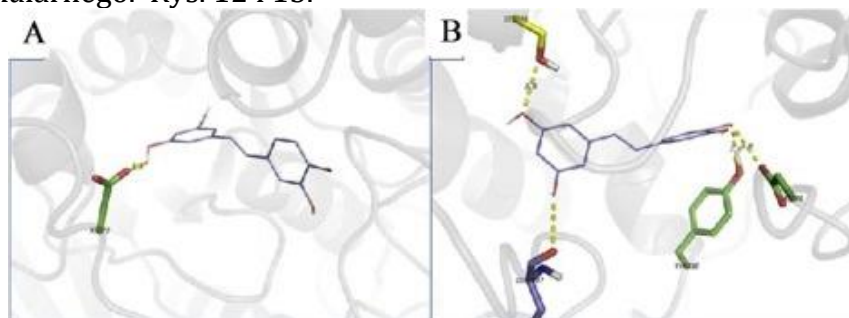


Rys.11 UV Chromatogram ekstraktu metanolowego z korzeni *Belamcanda chinensis*, z numerami identyfikacji poszczególnych związków

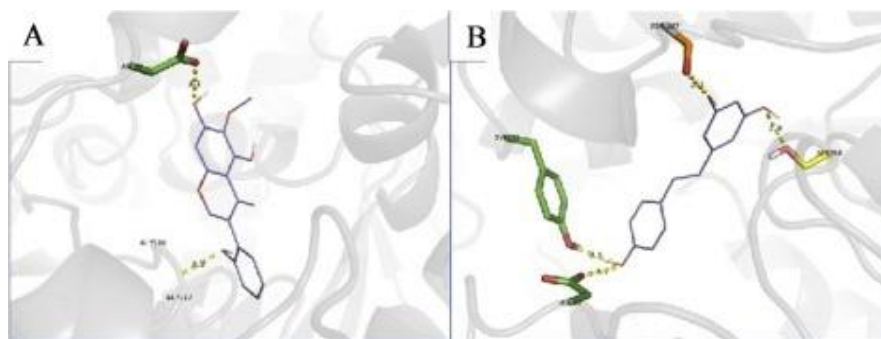
Z użyciem HPLC-DAD-MS opracowałem metodę pozwalającą na rozdział głównych składników analizowanego ekstraktu. Analiza danych otrzymanych z detektora DAD, MS, porównanie z dostępnymi wzorcami chemicznymi oraz piśmiennictwem pozwoliły na określenie struktury wszystkich jedenastu z wykrytych związków. Struktury zidentyfikowanych polifenoli przedstawia Rys. 10.

Wśród ogromnej liczby naturalnych produktów, które okazały się być inhibitorami cholinesteraz *in vitro*, o czym wspomniałem wcześniej, polifenole również wykazują pewną aktywność w tym kierunku i mogą być źródłem dla nowych potencjalnych leków pomocnych w stanach związanych z pogorszeniem u chorych funkcji poznawczych takich jak zaburzenia pamięci czy percepcji. [65][59]. Z drugiej strony polifenole wykazujące taką aktywność dzięki ich ugruntowanym właściwościom przeciwzapalnym i z tego powodu mogą być stosowane w profilaktyce przeciw demencji [59] wśród których stilbeny, takie jak resweratrol i izoflawony, takie jak genisteina, są wymieniane jako najaktywniejsze. Jednak wśród tych dwóch strukturalnych klas, istnieje wiele innych związków, które nie były badane w tym kierunku. Ze względu na fakt, że wyizolowane przez mnie izoflawony oraz pochodne stilbeny są ciekawymi związkami pochodzenia naturalnego oraz biorąc pod uwagę, że w piśmiennictwie stwierdzono, iż związki o podobnej strukturze mogą mieć właściwości hamujące aktywność ChE [66][67][68], postanowiłem zbadać wpływ wyizolowanych substancji wobec tych enzymów w eksperymencie *in vitro*. Wszystkie izoflawony były generalnie słabsze niż oba izolowane stilbeny, niezależnie od izoformy enzymu (AChE czy BChE). Jednak najbardziej metoksylowany aglikon izoflawonu – irisflorentyna (**1**) wykazywał wyraźną selektywność względem AChE (36% inhibicji w porównaniu do 9% aktywności BChE). Związek ten jest również markerem farmakopealnym jakości surowca, ale badania nad jego właściwościami farmakologicznymi są znikome w porównaniu z tektorygeniną i irygeniną [61]. Ze względu na stosunkowo niską polarność substancji (**1** wynoszącą 2,9 - w porównaniu do 2,6- tektorigeniny XLogP3 wg PubChem) jej właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne będą prawdopodobnie różnić się od innych izoflawonów. Dodatkowo, metoksylowane izoflawonoidy mają wyższą biodostępność w porównaniu z niemetylozowanymi odpowiednikami [69]. Dlatego ta struktura może być brana pod uwagę do dalszych badań w celu wyjaśnienia mechanizmów jej selektywności. Z kolei piceatannol w różnych badaniach wykazywał raczej słabą biodostępność, porównywalną z innymi stilbenami czy innymi aglikonami izoflawonu [70] a w moich badaniach był umiarkowanie i swoiście aktywny tylko przeciwko BChE (20-40% inhibicji wstężeńiu 100 µg/ml). (Dokładne dane aktywności poszczególnych związków prezentowane są w tab.1 publikacji P-3). Na podstawie tych wyników, aby lepiej

zrozumieć działnie hamujące AChE i BChE *in vitro* badanych związków , irilina B, piceatannol i resweratrol jako najaktywniejsze poddano eksperymentom dokowania molekularnego. Rys. 12 i 13.



Rys. 12 Interakcje piceatannolu (**9**) (fioletowy szkielet) w przestrzeni enzymu (szary kolor) zarówno z AChE (**A**), jak i BChE (**B**), Pozostałości są zabarwione zgodnie z ich obszarem wiązania na żółto (triada katalityczna) i na zielono (obwodowe miejsce anionowe). Wiązania wodorowe ustanowione między związkami i przedstawionymi resztami są pokazane za pomocą ciemnożółtych linii przerywanych.



Rys.13 Interakcje iriliny B (**5**) (fioletowy szkielet), w przestrzeni enzymu (szary kolor) zarówno dla AChE (**A**), jak i BChE (**B**), Pozostałości są zabarwione zgodnie z ich obszarem wiązania na żółto (triada katalityczna) i na zielono (obwodowe miejsce anionowe). Wiązania wodorowe ustanowione między związkami i przedstawionymi resztami są pokazane za pomocą ciemnożółtych linii przerywanych.

Na tych rysunkach można dostrzec reprezentacyjne miejsca aktywne enzymu z zadokowanym związkiem. Gdy zbadano szczegółową reprezentację pozycji dokowania, mogliśmy zaobserwować kierunkowość ustalonej sieci wiązań wodorowych. Główne wiązania wodorowe tworzą się z resztami triady katalitycznej (kolor żółty) i obwodowego miejsca anionowego (kolor zielony). Dlatego badane związki blokują dostęp do kluczowych reszt biorących udział w normalnym funkcjonowaniu enzymu, takich jak części triady katalitycznej i obwodowe miejsca anionowe i mogą wyjaśniać hamujące działanie wymienionych związków. Uzyskane przeze mnie wyniki z badań *in silico* poszerzają wiedzę w rozwoju racjonalnego projektowania leków, w tym wdrażanie leków ziołowych w leczeniu globalnie nasilających się chorób neurodegeneracyjnych. Postulowany udział odpowiedzi zapalnej w progresji neurodegeneracji sprawia, że naturalne polifenole jako związki p/zapalne są interesującymi strukturami dla programów poszukiwania takich leków, wspomagających leczenie demencji. Należy jednak zwrócić uwagę, że przeprowadzone eksperymenty mają charakter badań wstępnych, pozwalających jedynie na wytypowanie związków, które w przyszłości mogą zostać użyte w dalszych badaniach biologicznych.

4. Analiza chromatograficzna (LC-ESI-MS/MS), kompleksowa analiza jakościowa i ilościowa składu wyciągów przygotowanych z różnych części gatunku *Coleus amboinicus* Lour. uprawianych w różnych strefach klimatycznych; ocena

potencjału antyoksydacyjnego tych wyciągów; ocena zawartości składników pokarmowych i ich strawności.

Coleus amboinicus Lour. (synonim: *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng), Lamiaceae, to wieloletnia roślina pochodząca z Indonezji. Uprawia się ją również w tropikalnej Afryce, Azji i Australii. Na tym terenie jest używana jako roślina przyprawowa i ozdobna. Znalazła również zastosowanie w tamtejszej medycynie ludowej. Badania in vivo wykazały, że *C. amboinicus* wykazuje działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne [71], przeciwnowotworowe w stosunku do Sarcoma-180 i wodobrzusza Ehrlicha [72], Swoją aktywność wykazała również w reumatoidalnym zapaleniu stawów [73], przeciwbakteryjnym działaniu wobec *Staphylococcus aureus* [74]. Badania in vitro wykazały, że ekstrakt z *C. amboinicus* działał antyoksydacyjnie i przeciwbakteryjnie [75][76]. Wykazuje działanie przeciwgrzybicze w układzie pokarmowym [77] i działanie przeciwłupieżowe, a także działanie cytotoksyczne na komórki raka piersi MCF-7 [78]. Dodatkowo wykazuje działanie antyproliferacyjne wobec MCF-7 i dwóch innych linii komórek nowotworowych: Caco-2, HCT-15 [79]. Obecnie dostępnych jest tylko kilka doniesień naukowych na temat składu chemicznego tej rośliny czy izolacji głównych składników. Informacje na temat bioaktywnych składników zostały zebrane i omówione ponad dekadę temu [80] a zawarte tam informacje głównie dotyczyły związków polifenolowych, z grupy metoksyloowanych flawonoidów, kwasów hydroksycynamonowych z kwasem rozmarynowym jako głównym, kwasami salwianolowymi A i L. Drugą ważną klasą fitochemiczną w *C. amboinicus* są izoprenoidy, takie jak fitosterole [81], liczne lotne mono- i seskwiterpenoidy uzyskane z olejku eterycznego [82][83]. Inne związki, które były obecne w ekstrakcie z liści obejmowały kilka glikozydów flawonowych i diterpeneoidów chinonowych, takich jak royleanone. Wstępne badania nad tym gatunkiem w których brałem udział dotyczyły jego przydatności i wartości odżywczej w paszy dla przeżuwaczy (Publikacja 07). Wyniki tych doświadczeń udowodniły wysoki potencjał *C. amboinicus* jako modulatora metanogenezy i biouwodornienia w żwaczu. Jednocześnie zasugerowaliśmy, że wysoka zawartość kwasu rozmarynowego może się do tego przyczyniać.

Ponieważ gatunek ten dobrze aklimatyzuje się w warunkach polskich, moim celem było porównanie profilu fitochemicznego surowca z upraw w warunkach tropikalnych z tym który rósł w naszym klimacie. Prawidłowa identyfikacja i klasyfikacja składników surowca roślinnego jest bowiem niezbędna do zrozumienia ich farmakologicznego i biologicznego znaczenia.

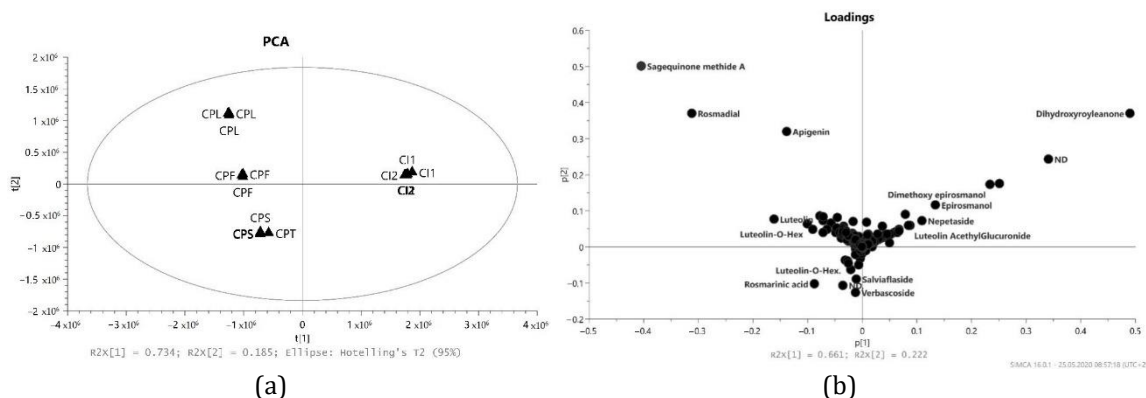
Materiał roślinny, który posłużył do analizy porównawczej uprawiany był w 2 różnych miejscach w Indonezji (miasta Bogor i Cinjur) oraz na plantacji koło Poznania. (Szczegóły uprawy i zbioru zawiera publikacja P-4). Zebrany i wysuszony materiał z upraw polskich przed ekstrakcją został podzielony na liście (CPL), pędy (CPS), kwiaty (CPF) i łodyżki (CPT), natomiast materiał indonezyjski (CI1, CI2) nie był dzielony przed ekstrakcją. Dla wszystkich próbek wykonałem ekstrakcje 80% metanolem, a następnie otrzymane wyciągi poddałem ekstrakcji do fazy stałej - SPE (solid phase extraction). Analiza jakościowa przygotowanych wyciągów (indonezyjskich upraw) z użyciem metody UHPLC-HRESI-MS wykazała, że zawierają one 34 głównych związków, z których 11 to były kwasy fenolowe, 10 należała do grupy flawonoidów a pozostałe 12 zidentyfikowałem jako diterpeny oraz jeden glikozyd monoterpenny (nepetazyd). W materiale z upraw polskich w analizie zidentyfikowałem w liściach 22 związki (6 kwasów fenolowych, 13 flawonoidów i 3 diterpeny) w kwiatach 20 związków (8 kwasów fenolowych, 7 flawonoidów i 2 diterpeny) w korze 31 związków (18 kwasów fenolowych, 7 flawonoidów i 6 diterpenów) w w łodyżkach 21 związków (8 kwasów fenolowych, 10

flawonoidów i 3 diterpeny). Większość z wykrytych związków została zidentyfikowana na podstawie widm fragmentacyjnych zgodnie z dostępnym piśmiennictwem oraz danymi zawartymi w dostępnych bazach (Human Metabolome Database, MetFrag-Online Database). (dokładne dane chromatograficzne i spektrometryczne zawiera Tabela 1 publikacji P-4).

W prezentowanych badaniach zawartość polifenoli była najwyższa w wyciągach z liści (CPL) i kwiatów (CPF) roślin uprawianych w Polsce: odpowiednio $112,95 \pm 0,8$ i $18,44 \pm 0,6$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, (w przeliczeniu na kwas galusowy). Była to zawartość wyraźnie wyższa niż w roślinach uprawianych w naturalnych indonezyjskich warunkach klimatycznych: $23,61 \pm 0,2$ (CI1) i $16,79 \pm 1,5$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (CI2) ekwiwalentu kwasu galusowego. Z kolei składniki diterpenoidowe wykryto głównie w wyciągach metanolowych roślin uprawianych w Indonezji (CI1) i (CI2) i stanowiły znaczną część wszystkich związków, $23,64 \pm 0,2$ i $15,59 \pm 0,2$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (w przeliczeniu na kwas karnozowy), podczas gdy w próbach uprawianych w Polsce we wszystkich częściach roślin stwierdzono mniej niż $1,0$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ tych związków. Rośliny uprawiane w Indonezji zawierały acetoksy-dihydroksyroleanon jako główny związek diterpenowy ($16,64$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ w (CI1) i $10,17$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ w (CI2), drugim co do ilości był dihydroksyroleanon $5,12$ i $4,43$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. W roślinach z Polski ilości tych diterpenów były na znikomym poziomie. Najliczniej występował rozmanol w pędach (CPS) ($0,19$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) oraz rozmadial w liściach (CPL), kwiatach (CPF) i gałązkach (CPT) odpowiednio na poziomie $0,8$, $0,63$ i $0,03$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Wśród kwasów fenolowych dominowały proste kwasy hydroksylowe z kasem rozmarynowym jako głównym, natomiast flawonoidy zostały zidentyfikowane głównie jako glikozydy luteoliny, apigeniny i kemferolu.

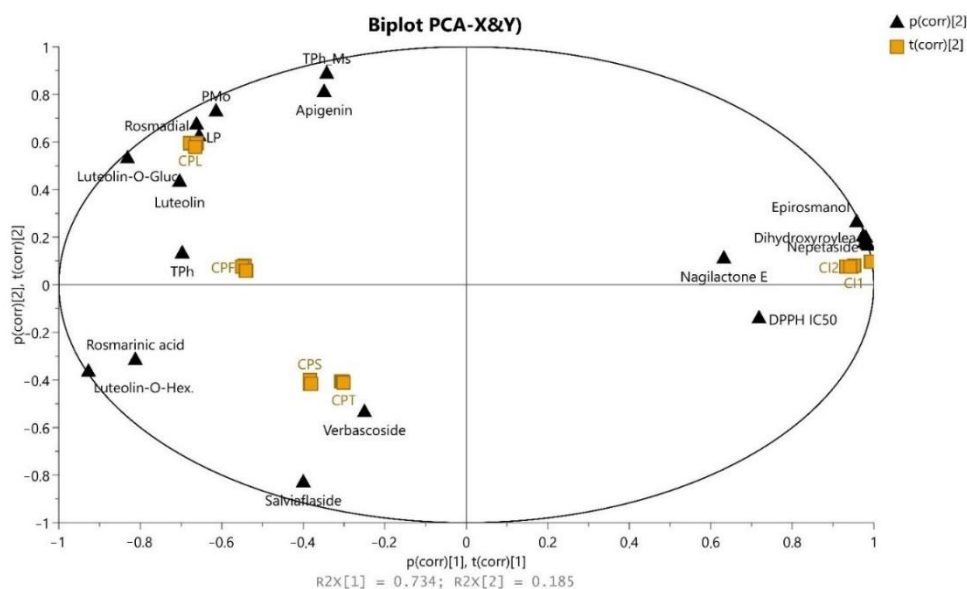
Do oceny zawartości całkowitej polifenoli (TPh) posłużyłem się spektralną metodą oparta na reakcji Folin–Ciocalteu. Wszystkie przygotowane przeze mnie wyciągi zostały również sprawdzone w testach antyoksydacyjnym zmiatania wolnych rodników (DPPH) oraz teście zdolności redukcji fosfomolibdenianu (PMo) czy w teście badającym zdolność peroksydacji lipidów w reakcji Fentona. (LP) Aby zrozumieć korelacje między profilem chemicznym a wynikami tych testów przeprowadziłem porównawczą analizę statystyczną (wielowymiarową analizę danych) z użyciem metody analizy głównych składowych (PCA) oraz ortogonalną regresję częściową najmniejszych kwadratów-analizę dyskryminacyjną (OPLS-DA).

W analizie głównych składowych (PCA) pierwsze dwie główne składowe (PC1 i PC2) tłumaczą prawie 88,3% możliwej zmienności w obrębie próbek i na wykresie wyraźnie widać tendencję do tworzenia klastrów (grup), rozdzielających próbki z Indonezji i Polski.



Rys.14 (a) Wykres wyników PCA oparty na danych UHPLC-MS pokazujący grupę C. amboinicus uprawy z Indonezji (CI1 i CI2) i grupę liści (CPL), kwiatów (CPF), łodyg (CPS) i gałązek (CPT) z C. amboinicus uprawianego w Polsce. (b) wykres zmiennych, które są skorelowane z rozdziałem na wykresie wyników;

Separacja na wykresie (a) związana jest z kompleksem różnych klas związków w obu grupach (b). W próbkach z Polski (lewa strona) dominują flawonoidy i kwasy fenolowe, w próbkach indonezyjskich (prawa strona) diterpeny z acetoksydihydroksyroleanonem, dimetoksy-epirozmanolem i dihydroksyroleanonem jako głównymi. Grupa ta jest istotnie odróżniona od pozostałych próbek i silnie ujemnie skorelowana z aktywnością DPPH (EC50) zgodnie z wykresem na rys. 15 oraz dodatnio skorelowana z wysoką akumulacją diterpenów (dihydroksyroleanon, epirozmanol, rozmanol, acetoksy dihydroksyroleanon). Dodatkowo niska aktywność testu PMo w tej grupie koreluje z najniższym poziomem flawonoidów i kwasów fenolowych. Rozpatrując zróżnicowanie wg drugiej głównej składowej PC2 w roślinach uprawianych w Polsce (lewa strona) wyróżniamy trzy skupienia: CPS, CPT razem i osobno CPL i CPF, które są dodatnio skorelowane głównie ze związkami polifenolowymi (TPh). Mniejszy wpływ na różnicowanie w tej grupie mają kwas rozmarynowy czy glikozydy flawonoidowe. Wszystkie ekstrakty uzyskane z roślin uprawianych w Polsce pozytywnie korelowały z zawartością TPh i wszystkimi testami antyoksydacyjnymi co przekłada się na najlepsze działanie antyoksydacyjne. Z kolei zawartość związków o budowie diterpenowej w mniejszym stopniu wpływa na takie działanie.



Rys.15 Wykres wyników PCA oparty na danych UHPLC-MS i danych z testów DPPH, PMo, LP, TPh pokazujący grupę *C. amboinicus* uprawy z Indonezji (CI1 i CI2) i grupę liści (CPL), kwiatów (CPF), łodyg (CPS) i gałązek (CPT) z *C. amboinicus* uprawianego w Polsce. (b) wykres zmiennych, które są skorelowane z rozdziałem na wykresie wyników;

Zbadano również wartości odżywcze analizowanego surowca z możliwością wykorzystania jako składnika pokarmowego w paszy dla zwierząt, oraz strawność takiej paszy u zwierząt modelowych. Wyniki uzyskane wskazują, że więcej ogólnego białka zawierały uprawy indonezyjskie w porównaniu z polskimi, zawartość tłuszczu surowego była na podobnym poziomie w obu grupach uprawowych.

Kompleksowa analiza składu fitochemicznego oraz zawartość poszczególnych składników z gatunku *C. amboinicus* została przeprowadzona poraz pierwszy. Połączenie wyników HPLC-MS z metodami statystycznymi jest obecnie coraz częściej używane do wyjaśniania i pokazywania korelacji między analizowanymi próbkami o bardzo złożonym składzie. Takie podejście wpisuje się w nowoczesne trendy w analizie fitochemicznej,

które zbliżają ten obszar badań do metabolomiki, rozumianej jako gałąź biologii systemów.

5. Analiza chromatograficzna (LC-ESI-MS/MS), kompleksowa analiza jakościowa i ilościowa składu różnych wyciągów przygotowanych z surowca farmaceutycznego *Solidaginis herba* oraz ocena aktywności antyoksydacyjnej i potencjalnej mutagenności tego surowca

Farmakopea Europejska (Ph.Eur) akceptuje dwa równoważne gatunki, *Solidago canadensis* L. i *S. gigantea* Ait. jako surowiec ziele nawłoci (*Solidaginis herba*). Niewystarczające dane na temat profilu fitochemicznego i bioaktywności tego surowca skłoniły mnie do sprawdzenia czy rzeczywiście te dwa różne gatunki botaniczne mogą stanowić identyczne źródło surowca farmakopealnego. Co więcej, czy te gatunki mają taką samą bioaktywność oraz, czy podziemne części obu gatunków mają jakąkolwiek wartość pod względem potencjalnych właściwości farmakologicznych. Moim celem była weryfikacja składu ilościowego i profilu fitochemicznego obu gatunków z populacji inwazyjnych rosnących w Polsce z zastosowaniem analizy HPLC-MS/MS, oraz ocena aktywności antyoksydacyjnej i potencjalnej mutagenności tego surowca.

Oba gatunki wywodzą się z Ameryki Północnej, i zostały sprowadzone do Europy jako rośliny ozdobne. Po zadomowieniu się i naturalizacji w regionie o klimacie umiarkowanym te dzikie rośliny stały się mocno inwazyjne. W wielu krajach Europy *S. gigantea* i *S. canadensis* l. znajdują się na „czarnej liście” roślin inwazyjnych tj. neofitów, których negatywny wpływ ekologiczny został udokumentowany i które są problematyczne z punktu widzenia ochrony bioróżnorodności.[84] Według monografii farmakopealnej flawonoidy są związkami markerowymi tego surowca. Ich zawartość nie powinna być mniejsza niż 2,5% w przeliczeniu na hiperozyd, a głównymi składnikami są kwercetyna, kempferol, izoramnetyna i 3-O-glikozydy ramnetyny. Drugą klasą związków fenolowych w surowcu są kwasy kawoilochinowe (kwas chlorogenowy i inne). Inne fitozwiązki charakterystyczne dla *Solidago* sp. obejmują szereg saponin triterpenoidowych, diterpenów klerodanowych i laktonów diterpenoidowych.[85] Istnieją również pewne różnice strukturalne w obrębie triterpenów i diterpenów, *S. canadensis* zawiera głównie diterpeny typu *trans*-klerodanowego i labdanowego, podczas gdy dla *S. gigantea* charakterystyczne są diterpeny *cis*-klerodanowe.

Do analizy fitochemicznej przeznaczyłem 4 wyciągi metanolowe z zieleń i korzeni obu gatunków. Rys. 16 przedstawia chromatogram z identyfikacją pików dla tych wyciągów. W części naziemnej obu gatunków przeanalizowałem ponad 60 pików, a dla części podziemnej ponad 70. Dokładne dane i identyfikacje związków zawiera tab.1 publikacji P-5.).

Glikozydy flawonoidowe dominowały w zieleń obu gatunków, wśród których kwercytryna była głównym związkiem. Większość flawonoli zawierała kwercetynę jako aglikon przy czym w *S. canadensis* glikozydy kaempferolu były również obecne w znacznej ilości (4 mg/g suchej masy w porównaniu do 0,54 mg/g w *S. gigantea*). Różnice ilościowe między gatunkami były wyraźnie widoczne, np. stwierdziłem, że kwercytryna, główny i dominujący związek w *S. gigantea* (11,6 mg/g suchej masy) była tylko drugorzędym związkiem w *S. canadensis* (0,03 mg/g suchej masy). Z kolei flawonole o największej zawartości w *S. canadensis* czyli rutyna, 4,5 mg/g s.m., w porównaniu z 0,01 mg/g *S. gigantea* i nikotyfloryna, 2,7 mg/g s.m. której nie stwierdziłem u *S. gigantea* czy kwercetyna 2,6 mg/g czyli prawie dwa i pół razy więcej niż u *S. gigantea* 1,1 mg/g. Drugą główną klasą związków fenolowych w zieleń były estry kawoilochinowe (CQA), przy czym głównym związkiem w obu gatunkach był kwas 5-O-kawoilochinowy (kwas

neochlorogenowy) wraz z kilkoma kwasami mono-, di-kawoilochinowymi i feruilochinowymi. W przeciwieństwie do flawonoli skład CQA w ziele obu gatunków nie różnił się tak bardzo, za to różnił się ilościowo. Stwierdziłem, że ich zawartość w *S. canadensis* była trzy i pół razy wyższa niż *S. gigantea*.

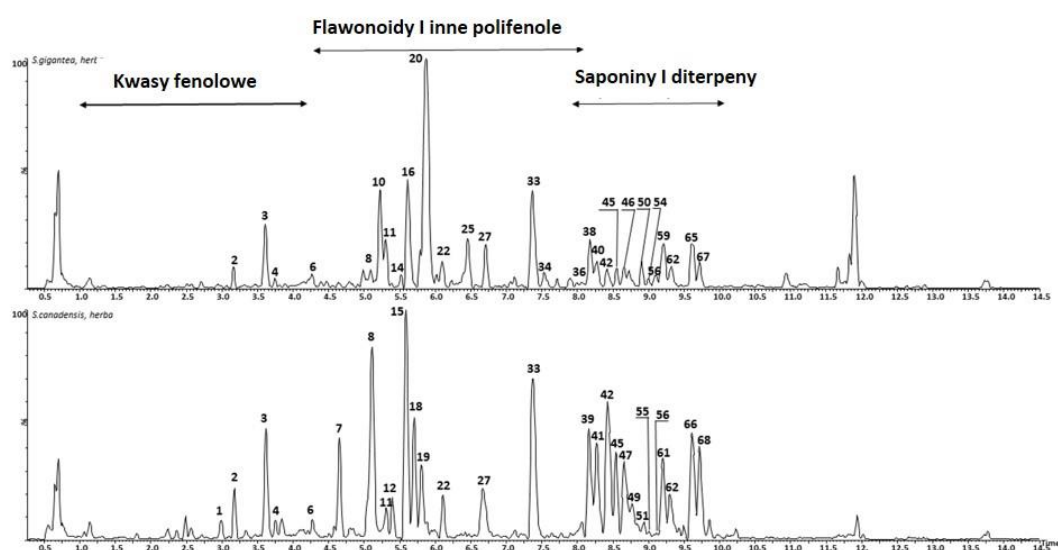
Pomimo szeregu informacji fitochemicznych i biologicznych dla ziela nawłoci nadal istnieje niewiele danych dotyczących podziemnych części *S. canadensis* i *S. gigantea*. W swoich badaniach stwierdziłem, że profil kwasów fenolowych w ekstraktach z korzeni/kłączy był bardziej zróżnicowany między tymi dwoma gatunkami niż w częściach nadziemnych. Nie wykryłem flawonoidów za to stwierdziłem, że CQA jest znacznie więcej w gatunku *S. gigantea* czyli odwrotnie niż w ziele. Polifenole z ekstraktów z korzeni obu gatunków składają się głównie z wolnych pochodnych hydroksycynamoilochinowych, z głównymi kwasami 5-O-kawoilochinowymi i 3,5-O-dikawoilochinowymi. Wyciąg metanolowy z korzeni *S. gigantea* zawiera (30,2 mg/g suchej masy) polifenoli – około pięciokrotnie więcej niż *S. canadensis* (5,8 mg/g suchej masy). Z kolei wyciąg z korzeni *S. gigantea* jest ponad dziesięciokrotnie bogatszy w polifenole niż ziele, natomiast *S. canadensis* w ziele jest około 1/2 więcej polifenoli niż w korzeniach.

Oprócz podstawowego wskazania fitoterapeutycznego dla ziela nawłoci słabo udokumentowana jest rola przeciwutleniaczy czy antymutagenów tego surowca. Kolejnym etapem badań nad tym surowcem było przeprowadzenie testów antyoksydacyjnych i antymutagennych dla ekstraktów i frakcji różniących się polarnością. Aktywność antyoksydacyjną oceniłem za pomocą trzech testów spektrofotometrycznych: testem DPPH (zmiatanie wolnych rodników), testem fosfomolibdenowym (PMo-zdolność redukcji metali przejściowych) oraz testem hamowania peroksydacji wielonienasyconych lipidów. Testy Ames na szczepach *Salmonella typhimurium* posłużyły do zbadania dwóch mechanizmów wywołania mutagenyzy – oksydacyjnego w szczepie TA102 i bezpośredniego chemicznego w szczepie TA 100. Aktywność antyoksydacyjna i antymutagenna były różne w zależności od gatunku czy części rośliny, przy czym najsilniej peroksydację lipidów hamowały frakcje eterowa i octanu etylu z ziela obu gatunków (IC₅₀ 13,33 – 16,89 µg/ml) oraz frakcja butanolowa z *S. gigantea* UP (IC₅₀ = 13,32 µg/ml). Wyciągi metanolowe, z różnych części i gatunków wykazywały aktywność antyoksydacyjną, ale w większości przypadków u *S. gigantea* ta aktywność była wyraźnie silniejsza (z wyjątkiem korzeni gdzie różnice nie były znaczące). Na przykład, w teście peroksydacji kwasu linolowego ekstrakt metanolowy z ziela *S. gigantea* był skuteczny przy wartości IC₅₀ 18,08 µg/ml w porównaniu ze standardem czystej kwercetyny, który ma IC₅₀ = 9,23 µg/ml. Z kolei dla ekstraktu z *S. canadensis* wartość ta była prawie czterokrotnie wyższa (68,26 µg/ml). W teście DPPH najsilniejszą była frakcją octanu etylu z ziela *S. gigantea* (EC₅₀ = 12,99 µg/ml), następnie eterowa *S. canadensis* z ziela (EC₅₀ = 15,79 µg/ml) i octanu etylu z korzeni (EC₅₀ = 18,19 µg/ml). W redukcji PMo trzy najbardziej aktywne frakcje były te same, ale w innej kolejności: eterowa z ziela *S. canadensis*, następnie octanu etylu z ziela *S. gigantea* i octanu etylu z korzeni *S. canadensis*. Z kolei, peroksydację kwasu linolowego bardzo skutecznie hamowała frakcja butanolowa *S. gigantea* z korzeni i frakcje eterowe z ziół obu gatunków (wszystkie wykazują IC₅₀ poniżej 15 µg/ml). Również frakcje octanu etylu z korzeni *S. gigantea* i z ziół obu gatunków były bardzo aktywne z IC₅₀ nieco powyżej 15 µg/ml. W testach antyoksydacyjnych wyższą aktywność ekstraktów i frakcji mogła być spowodowana wyższą zawartością polifenoli, głównie flawonoli z niewielkim udziałem CQA w częściach nadziemnych, a w korzeniach tylko przez CQA. Z kolei wyniki testów antymutagennych wydają się nie mieć wyraźnej korelacji z całkowitą zawartością

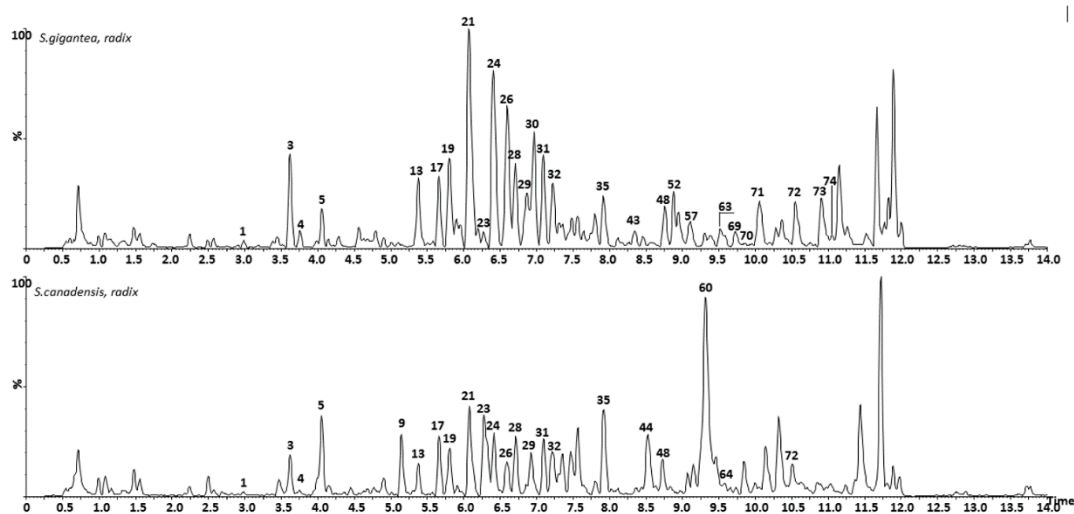
polifenoli ani z żadną z ich podklas. Mutagenesa chemiczna została całkowicie zahamowana przez frakcje niepolarne, ale mutagenesa oksydacyjna była hamowana do 35% tylko przez *S. canadensis*. Nie znalazłem wyraźnego związku między profilem chemicznym i działaniem antymutagennym.

Aby zrozumieć korelacje między profilem chemicznym a wynikami tych testów przeprowadziłem porównawczą analizę statystyczną (wielowymiarową analizę danych) z użyciem metody analizy głównych składowych (PCA). (Dane w publikacji P-5). Podsumowując, oba gatunki mają odmienny profil fitochemiczny i różnią się także badaną aktywnością. Dowiodłem, że oba gatunki nie mogą być traktowane równoważnie i zawsze należy potwierdzać ich tożsamość a jedną z tych metod może być analiza fitochemiczna.

A)



B)



Rys.16 Chromatogramy UPLC-DAD ekstraktów metanolowych z ziela **A)** i korzeni **B)** dla *S. gigantea* i *S. canadensis*, zarejestrowane przy $\lambda = 215 - 495$ nm

Literatura wykorzystana w powyższym opisie osiągnięcia

1. Viant, M.R.; Sommer, U. Mass spectrometry based environmental metabolomics: a primer and review. *Metabolomics* **2012**, *9*, 144–158, doi:10.1007/s11306-012-0412-x.
2. Chen, C.; Gonzalez, F.J.; Idle, J.R. LC-MS-based metabolomics in drug metabolism. *Drug Metab. Rev.* **2007**, *39*, 581–97, doi:10.1080/03602530701497804.
3. Yuliana, N.D.; Khatib, A.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metabolomics for bioactivity assessment of natural products. *Phytother. Res.* **2011**, *25*, 157–69, doi:10.1002/ptr.3258.
4. Oliver, S.G.; Winson, M.K.; Kell, D.B.; Baganz, F. Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends Biotechnol.* **1998**, *16*, 373–8.
5. Ioset, K.N.; Nyberg, N.T.; Van Diermen, D.; Malnoe, P.; Hostettmann, K.; Shikov, A.N.; Jaroszewski, J.W. Metabolic profiling of *Rhodiola rosea* rhizomes by ¹H NMR spectroscopy. *Phytochem. Anal.* **2011**, *22*, 158–65, doi:10.1002/pca.1262.
6. Lemonakis, N.; Gikas, E.; Halabalaki, M.; Skaltsounis, A.-L. Development and validation of a combined methodology for assessing the total quality control of herbal medicinal products--application to oleuropein preparations. *PLoS One* **2013**, *8*, e78277, doi:10.1371/journal.pone.0078277.
7. Rasmussen, B.; Cloarec, O.; Tang, H.; Staerk, D.; Jaroszewski, J.W. Multivariate analysis of integrated and full-resolution ¹H-NMR spectral data from complex pharmaceutical preparations: St. John's wort. *Planta Med.* **2006**, *72*, 556–63, doi:10.1055/s-2006-931567.
8. Pan, Q.; Dai, Y.; Nuringtyas, T.R.; Mustafa, N.R.; Schulte, A.E.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Investigation of the chemomarkers correlated with flower colour in different organs of *Catharanthus roseus* using NMR-based metabolomics. *Phytochem. Anal.* **2013**, *25*, 66–74, doi:10.1002/pca.2464.
9. Colquhoun, I.J. Use of NMR for metabolic profiling in plant systems. *J. Pestic. Sci.* **2007**, *32*, 200–212, doi:10.1584/jpestics.R07-03.
10. Jahangir, M.; Abdel-Farid, I.B.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metal ion-inducing metabolite accumulation in *Brassica rapa*. *J. Plant Physiol.* **2008**, *165*, 1429–37, doi:10.1016/j.jplph.2008.04.011.
11. López-Gresa, M.P.; Maltese, F.; Bellés, J.M.; Conejero, V.; Kim, H.K.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metabolic response of tomato leaves upon different plant-pathogen interactions. *Phytochem. Anal.* **2010**, *21*, 89–94, doi:10.1002/pca.1179.
12. Agnolet, S.; Jaroszewski, J.W.; Verpoorte, R.; Staerk, D. H NMR-based metabolomics combined with HPLC-PDA-MS-SPE-NMR for investigation of standardized *Ginkgo biloba* preparations. *Metabolomics* **2010**, *6*, 292–302, doi:10.1007/s11306-009-0195-x.
13. Michl, J.; Modarai, M.; Edwards, S.; Heinrich, M. Metabolomic analysis of *Ranunculus* spp. as potential agents involved in the etiology of equine grass sickness. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 10388–93, doi:10.1021/jf201430k.
14. Le Gall, G.; Colquhoun, I.J.; Defernez, M. Metabolite profiling using (¹H) NMR spectroscopy for quality assessment of green tea, *Camellia sinensis* (L.). *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 692–700, doi:10.1021/jf034828r.
15. Glauser, G.; Guillarme, D.; Grata, E.; Boccard, J.; Thiocone, A.; Carrupt, P.-A.; Veuthey, J.-L.; Rudaz, S.; Wolfender, J.-L. Optimized liquid chromatography-mass spectrometry approach for the isolation of minor stress biomarkers in plant extracts and their identification by capillary nuclear magnetic resonance. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1180*, 90–8, doi:10.1016/j.chroma.2007.12.021.
16. Sun, H.; Zhang, A.; Wang, X. Potential role of metabolomic approaches for Chinese medicine syndromes and herbal medicine. *Phytother. Res.* **2012**, *26*, 1466–71, doi:10.1002/ptr.4613.
17. Roux, A.; Lison, D.; Junot, C.; Heilier, J.-F. Applications of liquid chromatography coupled to mass spectrometry-based metabolomics in clinical chemistry and toxicology: A review. *Clin. Biochem.* **2011**, *44*, 119–35, doi:10.1016/j.clinbiochem.2010.08.016.
18. Böttcher, T.; Pitscheider, M.; Sieber, S. a Natural products and their biological targets: proteomic and metabolomic labeling strategies. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 2680–98, doi:10.1002/anie.200905352.

19. Shulaev, V.; Cortes, D.; Miller, G.; Mittler, R. Metabolomics for plant stress response. *Physiol. Plant.* **2008**, *132*, 199–208, doi:10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x.
20. Van der Kooy, F.; Verpoorte, R.; Marion Meyer, J.J. Metabolomic quality control of claimed anti-malarial *Artemisia afra* herbal remedy and *A. afra* and *A. annua* plant extracts. *South African J. Bot.* **2008**, *74*, 186–189, doi:10.1016/j.sajb.2007.10.004.
21. Shepherd, L.V.; Fraser, P.; Stewart, D. Metabolomics: a second-generation platform for crop and food analysis. *Bioanalysis* **2011**, *3*, 1143–59, doi:10.4155/bio.11.61.
22. Georgiev, M.I.; Ali, K.; Alipieva, K.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Metabolic differentiations and classification of *Verbascum* species by NMR-based metabolomics. *Phytochemistry* **2011**, *72*, 2045–51, doi:10.1016/j.phytochem.2011.07.005.
23. Kim, H.K.; Saifullah; Khan, S.; Wilson, E.G.; Kricun, S.D.P.; Meissner, A.; Goraler, S.; Deelder, A.M.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metabolic classification of South American *Ilex* species by NMR-based metabolomics. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 773–84, doi:10.1016/j.phytochem.2010.02.001.
24. Aliferis, K. a.; Chrysayi-Tokousbalides, M. Metabolomics in pesticide research and development: review and future perspectives. *Metabolomics* **2010**, *7*, 35–53, doi:10.1007/s11306-010-0231-x.
25. Pereira, S.I.; Figueiredo, P.I.; Barros, A.S.; Dias, M.C.; Santos, C.; Duarte, I.F.; Gil, A.M. Changes in the metabolome of lettuce leaves due to exposure to mancozeb pesticide. *Food Chem.* **2014**, *154*, 291–8, doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.019.
26. Shepherd, L.V.T.; Alexander, C. a.; Sungurtas, J. a.; McNicol, J.W.; Stewart, D.; Davies, H. V. Metabolomic analysis of the potato tuber life cycle. *Metabolomics* **2009**, *6*, 274–291, doi:10.1007/s11306-009-0183-1.
27. Hölscher, D.; Schneider, B. Laser microdissection and cryogenic nuclear magnetic resonance spectroscopy: an alliance for cell type-specific metabolite profiling. *Planta* **2007**, *225*, 763–70, doi:10.1007/s00425-006-0404-z.
28. Happyana, N.; Agnolet, S.; Muntendam, R.; Van Dam, A.; Schneider, B.; Kayser, O. Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal *Cannabis sativa* using LCMS and cryogenic NMR. *Phytochemistry* **2013**, *87*, 51–9, doi:10.1016/j.phytochem.2012.11.001.
29. Kim, H.K.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. NMR-based plant metabolomics: where do we stand, where do we go? *Trends Biotechnol.* **2011**, *29*, 267–75, doi:10.1016/j.tibtech.2011.02.001.
30. Phelan, V. V. *Feature-Based Molecular Networking for Metabolite Annotation*; 2020; Vol. 2104; ISBN 9781071602386.
31. Drew, B.; González-Gallegos, J.G.; Xiang, C.-L.; Kriebel, R.; Drummond, C.; Walker, J.; Sytsma, K. *Salvia* united: The greatest good for the greatest number. *Taxon* **2017**, *66*, 133–145, doi:10.12705/661.7.
32. Wu, Y.H.; Wu, Y.R.; Li, B.; Yan, Z.Y. Cryptotanshinone: A review of its pharmacology activities and molecular mechanisms. *Fitoterapia* **2020**, *145*, doi:10.1016/j.fitote.2020.104633.
33. Beikmohammadi, M. The Evaluation of Medicinal Properties of *Perovskia abrotanoides* Karel. *Middle-East J. Sci. Res.* **2012**, *11*, 189–193.
34. Sajjadi, S.E.; Mehregan, I.; Khatamsaz, M.; Asgari, G. Chemical composition of the essential oil of *Perovskia abrotanoides* Karel. growing wild in Iran. *Flavour Fragr. J.* **2005**, *20*, 445–446, doi:10.1002/ffj.1508.
35. Khaliq, S.; Volk, F.-J.; Frahm, A.W. Phytochemical investigation of *Perovskia abrotanoides*. *Planta Med.* **2007**, *73*, 77–83, doi:10.1055/s-2006-951766.
36. Perveen, S.; Malik, A.; Tareen, R.B. Structural determination of atricins A and B, new triterpenes from *Perovskia atriplicifolia*, by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 266–9, doi:10.1002/mrc.2364.
37. Mothana, R.A.A.; Jansen, R.; Gruenert, R.; Bednarski, P.J.; Lindequist, U. Antimicrobial and cytotoxic abietane diterpenoids from the roots of *Meriandera benghalensis* (Roxb.) Benth. *Pharmazie* **2009**, *64*, 613–615, doi:10.1691/ph.2009.9543.
38. Gao, S.; Liu, Z.; Li, H.; Little, P.J.; Liu, P.; Xu, S. Cardiovascular actions and therapeutic

- potential of tanshinone IIA. *Atherosclerosis* **2012**, *220*, 3–10, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.041.
39. Sairafianpour, M.; Christensen, J.; Stærk, D.; Budnik, B.A.; Kharazmi, A.; Bagherzadeh, K.; Jaroszewski, J.W. Leishmanicidal, Antiplasmodial, and Cytotoxic Activity of Novel Diterpenoid 1, 2-Quinones from *Perovskia abrotanoides*: New Source of Tanshinones. **2001**, 1398–1403.
 40. Takeda, Y.; Hayashi, T.; Masuda, T.; Honda, G.; Takaishi, Y.; Ito, M.; Otsuka, H.; Matsunami, K.; Khodzhimatov, O.K.; Ashurmetov, O.A. Chemical constituents of an Uzbek medicinal plant, *Perovskia scrophularifolia*. *J. Nat. Med.* **2007**, *61*, 84–85, doi:10.1007/s11418-006-0023-9.
 41. Perveen, S.; Malik, A.; Tareen, R.B.; Afza, N.; Iqbal, L. Atriplicisides A and B, two new glycosides from *Perovskia atriplicifolia*. *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. B J. Chem. Sci.* **2007**, *62*, 863–867, doi:10.1515/znb-2007-0617.
 42. Jiang, Z.Y.; Huang, C.G.; Xiong, H. Bin; Tian, K.; Liu, W.X.; Hu, Q.F.; Wang, H. Bin; Yang, G.Y.; Huang, X.Z. Perovskatone A: A novel C23 terpenoid from *Perovskia atriplicifolia*. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3886–3888, doi:10.1016/j.tetlet.2013.05.056.
 43. Chen, X.; Guo, J.; Bao, J.; Lu, J.; Wang, Y. The Anticancer Properties of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen): A Systematic Review. *Med. Res. Rev.* **2014**, *34*, 768–794, doi:10.1002/med.21304.
 44. Jiang, H.L.; Wang, X.Z.; Xiao, J.; Luo, X.H.; Yao, X.J.; Zhao, Y.Y.; Chen, Y.J.; Crews, P.; Wu, Q.X. New abietane diterpenoids from the roots of *Salvia przewalskii*. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 6687–6692, doi:10.1016/j.tet.2013.05.115.
 45. Kang, J.; Li, L.; Wang, D.; Wang, H.; Liu, C.; Li, B.; Yan, Y.; Fang, L.; Du, G.; Chen, R. Isolation and bioactivity of diterpenoids from the roots of *Salvia grandifolia*. *Phytochemistry* **2015**, *116*, 337–348, doi:10.1016/j.phytochem.2015.03.014.
 46. Senol, F.S.; Ślusarczyk, S.; Matkowski, A.; Pérez-Garrido, A.; Girón-Rodríguez, F.; Cerón-Carrasco, J.P.; Den-Haan, H.; Peña-García, J.; Pérez-Sánchez, H.; Domaradzki, K.; et al. Selective *in vitro* and *in silico* butyrylcholinesterase inhibitory activity of diterpenes and rosmarinic acid isolated from *Perovskia atriplicifolia* Benth. and *Salvia glutinosa* L. *Phytochemistry* **2017**, *133*, 33–44, doi:10.1016/j.phytochem.2016.10.012.
 47. Michavila, A.; De La Torre, M.C.; Rodríguez, B. 20-Nor-abietane and rearranged abietane diterpenoids from the root of *Salvia argentea*. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 1935–1937, doi:10.1016/S0031-9422(00)81178-4.
 48. Sabri, N.N.; Abou-Donia, A.A.; Ghazy, N.M.; Assad, A.M.; El-Lakany, A.M.; Sanson, D.R.; Gracz, H.; Barnes, C.L.; Schlemper, E.O.; Tempesta, M.S. Two new rearranged abietane diterpene quinones from *Salvia aegyptiaca* L. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4097–4099, doi:10.1021/jo00278a021.
 49. Zhou, Y.; Li, W.; Xu, L.; Chen, L. In *Salvia miltiorrhiza*, phenolic acids possess protective properties against amyloid β -induced cytotoxicity, and tanshinones act as acetylcholinesterase inhibitors. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2011**, *31*, 443–452, doi:10.1016/j.etap.2011.02.006.
 50. Danheiser, R.L.; Casebier, D.S.; Huboux, A.H. Total Synthesis of Aegyptinones A and B. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4844–4848, doi:10.1021/jo00096a027.
 51. Tabefam, M.; Farimani, M.; Danton, O.; Ramseyer, J.; Kaiser, M.; Ebrahimi, S.; Salehi, P.; Batooli, H.; Potterat, O.; Hamburger, M. Antiprotozoal Diterpenes from *Perovskia abrotanoides*. *Planta Med.* **2018**, *84*, 913–919, doi:10.1055/a-0608-4946.
 52. Erdogan Orhan, I.; Orhan, G.; Gurkas, E. An Overview on Natural Cholinesterase Inhibitors - A Multi-Targeted Drug Class - and Their Mass Production. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2011**, *11*, 836–842, doi:10.2174/138955711796575434.
 53. Macdonald, I.R.; Maxwell, S.P.; Reid, G.A.; Cash, M.K.; Debay, D.R.; Darvesh, S. Quantification of Butyrylcholinesterase Activity as a Sensitive and Specific Biomarker of Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* **2017**, *58*, 491–505, doi:10.3233/JAD-170164.
 54. Li, B.; Duysen, E.G.; Lockridge, O. The butyrylcholinesterase knockout mouse is obese on a high-fat diet. *Chem. Biol. Interact.* **2008**, *175*, 88–91, doi:10.1016/j.cbi.2008.03.009.

55. SIMON MAKIN The amyloid hypothesis on trial As the development of treatments for Alzheimer's disease continues to stumble, is it time for researchers to broaden their list of the condition's potential causes? *Nature* **2018**, *559*, 4–7, doi:10.1038/d41586-018-05719-4.
56. Ashare, R.L.; Kimmey, B.A.; Rupprecht, L.E.; Bowers, M.E.; Hayes, M.R.; Schmidt, H.D. Repeated administration of an acetylcholinesterase inhibitor attenuates nicotine taking in rats and smoking behavior in human smokers. *Transl. Psychiatry* **2016**, *6*, e713–e713, doi:10.1038/tp.2015.209.
57. Ahmed, F.; Ghalib, R.M.; Sasikala, P.; Ahmed, K.K.M. Cholinesterase inhibitors from botanicals. *Pharmacogn. Rev.* **2013**, *7*, 121–30, doi:10.4103/0973-7847.120511.
58. Senol, F.S.; Ślusarczyk, S.; Matkowski, A.; Pérez-Garrido, A.; Girón-Rodríguez, F.; Cerón-Carrasco, J.P.; Den-Haan, H.; Peña-García, J.; Pérez-Sánchez, H.; Domaradzki, K.; et al. Selective in vitro and in silico butyrylcholinesterase inhibitory activity of diterpenes and rosmarinic acid isolated from *Perovskia atriplicifolia* Benth. and *Salvia glutinosa* L. *Phytochemistry* **2017**, *133*, 33–44, doi:10.1016/j.phytochem.2016.10.012.
59. Politeo, O.; Bektašević, M.; Carev, I.; Jurin, M.; Roje, M. Phytochemical Composition, Antioxidant Potential and Cholinesterase Inhibition Potential of Extracts from *Mentha pulegium* L. *Chem. Biodivers.* **2018**, *15*, doi:10.1002/cbdv.201800374.
60. Mavrodiev, E. V.; Martínez-Azorín, M.; Dranishnikov, P.; Crespo, M.B. At least 23 genera instead of one: The case of *Iris* L. s.l. (Iridaceae). *PLoS One* **2014**, *9*, doi:10.1371/journal.pone.0106459.
61. Woźniak, D.; Matkowski, A. *Belamcandae chinensis* rhizoma – a review of phytochemistry and bioactivity. *Fitoterapia* **2015**, *107*, 1–14, doi:10.1016/j.fitote.2015.08.015.
62. Szandruk, M.; Merwid-Łąd, A.; Szeląg, A. The impact of mangiferin from *Belamcanda chinensis* on experimental colitis in rats. *Inflammopharmacology* **2018**, *26*, 571–581, doi:10.1007/s10787-017-0337-0.
63. Kaufmann, D.; Dogra, A.K.; Tahrani, A.; Herrmann, F.; Wink, M. Extracts from traditional Chinese medicinal plants inhibit acetylcholinesterase, a known Alzheimer's Disease target. *Molecules* **2016**, *21*, doi:10.3390/molecules21091161.
64. Conforti, F.; Rigano, D.; Menichini, F.; Loizzo, M.R.; Senatore, F. Protection against neurodegenerative diseases of *Iris pseudopumila* extracts and their constituents. *Fitoterapia* **2009**, *80*, 62–67, doi:10.1016/j.fitote.2008.10.005.
65. Pinho, B.R.; Ferreres, F.; Valentão, P.; Andrade, P.B. Nature as a source of metabolites with cholinesterase-inhibitory activity: An approach to Alzheimer's disease treatment. *J. Pharm. Pharmacol.* **2013**, *65*, 1681–1700, doi:10.1111/jphp.12081.
66. Yan, T.; Wang, T.; Wei, W.; Jiang, N.; Qin, Y.; Tan, R.; Ge, H. Polyphenolic acetylcholinesterase inhibitors from *Hopea chinensis*. *Planta Med.* **2012**, *78*, 1015–1019, doi:10.1055/s-0031-1298623.
67. Csuk, R.; Albert, S.; Kluge, R.; Ströhl, D. Resveratrol derived butyrylcholinesterase inhibitors. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2013**, *346*, 499–503, doi:10.1002/ardp.201300051.
68. Sermboonpaisarn, T.; Sawasdee, P. Potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors from *Ficus foveolata*. *Fitoterapia* **2012**, *83*, 780–784, doi:10.1016/j.fitote.2012.03.009.
69. Walle, T. Methylation of dietary flavones increases their metabolic stability and chemopreventive effects. *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, *10*, 5002–5019, doi:10.3390/ijms10115002.
70. Kershaw, J.; Kim, K.-H. The Therapeutic Potential of Piceatannol, a Natural Stilbene, in Metabolic Diseases: A Review. *J. Med. Food* **2017**, *20*, 427–438, doi:10.1089/jmf.2017.3916.
71. Chiu, Y.J.; Huang, T.H.; Chiu, C.S.; Lu, T.C.; Chen, Y.W.; Peng, W.H.; Chen, C.Y. Analgesic and antiinflammatory activities of the aqueous extract from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. both in vitro and in vivo. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2012**, *2012*, doi:10.1155/2012/508137.
72. Gurgel, A.P.A.D.; da Silva, J.G.; Grangeiro, A.R.S.; Oliveira, D.C.; Lima, C.M.P.; da Silva, A.C.P.; Oliveira, R.A.G.; Souza, I.A. In vivo study of the anti-inflammatory and antitumor activities

- of leaves from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae). *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *125*, 361–363, doi:10.1016/j.jep.2009.07.006.
73. Chang, J.M.; Cheng, C.M.; Hung, L.M.; Chung, Y.S.; Wu, R.Y. Potential use of *plectranthus amboinicus* in the treatment of rheumatoid arthritis. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2010**, *7*, 115–120, doi:10.1093/ecam/nem168.
 74. De Oliveira, F.F.M.; Torres, A.F.; Gonçalves, T.B.; Santiago, G.M.P.; De Carvalho, C.B.M.; Aguiar, M.B.; Camara, L.M.C.; Rabenhorst, S.H.; Martins, A.M.C.; Valença Junior, J.T.; et al. Efficacy of *plectranthus amboinicus* (Lour.) spreng in a murine model of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* skin abscesses. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2013**, *2013*, doi:10.1155/2013/291592.
 75. Bhatt, P.; Negi, P.S. Antioxidant and Antibacterial Activities in the Leaf Extracts of Indian Borage (&i>Plectranthus amboinicus</i>). *Food Nutr. Sci.* **2012**, *03*, 146–152, doi:10.4236/fns.2012.32022.
 76. Roshan D. Patel*, Naveen K. Mahobia, Manjul P. Singh, Anita Singh, Naheed W. Sheikh, Gulzar Alam, S.K.S.; Shree Antioxidant Potential of Leaves of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng Roshan. *Der Pharm. Lett.* **2010**, *2*, 240–245.
 77. Murthy, P.S.; Ramalakshmi, K.; Srinivas, P. Fungitoxic activity of Indian borage (*Plectranthus amboinicus*) volatiles. *Food Chem.* **2009**, *114*, 1014–1018, doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.064.
 78. Yulianto, W.; Andarwulan, N.; Giriwono, P.E.; Pamungkas, J. HPLC-based metabolomics to identify cytotoxic compounds from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng against human breast cancer MCF-7Cells. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2016**, *1039*, 28–34, doi:10.1016/j.jchromb.2016.10.024.
 79. Bhatt, P.; Joseph, G.S.; Negi, P.S.; Varadaraj, M.C. Chemical composition and nutraceutical potential of Indian borage (*Plectranthus amboinicus*) stem extract. *J. Chem.* **2013**, *2013*, doi:10.1155/2013/320329.
 80. Kaliappan, N.; Viswanathan, P. Pharmacognostical studies on the leaves of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. *Int. J. Green Pharm.* **2008**, *2*, 182, doi:10.4103/0973-8258.42740.
 81. Ruan, T.Z.; Kao, C.L.; Hsieh, Y.L.; Li, H.T.; Chen, C.Y. CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LEAVES OF *Plectranthus amboinicus*. **2019**, *55*, 105–106, doi:10.1007/s10600-019-02631-9.
 82. Pinheiro, P.F.; Costa, A.V.; De Assis Alves, T.; Galter, I.N.; Pinheiro, C.A.; Pereira, A.F.; Oliveira, C.M.R.; Fontes, M.M.P. Phytotoxicity and Cytotoxicity of Essential Oil from Leaves of *Plectranthus amboinicus*, Carvacrol, and Thymol in Plant Bioassays. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, 8981–8990, doi:10.1021/acs.jafc.5b03049.
 83. Erny Sabrina, M.N.; Razali, M.; Mirfat, A.H.S.; Mohd Shukri, M.A. Antimicrobial activity and bioactive evaluation of *Plectranthus amboinicus* essential oil. *Am. J. Res. Commun.* **2014**, *2*, 121–127.
 84. Compendium, I. species <https://www.cabi.org/isc/datasheet/50599>.
 85. Kołodziej, B.; Kowalski, R.; Kedzia, B. Antibacterial and antimutagenic activity of extracts aboveground parts of three *solidago* species: *Solidago virgaurea* L., *Solidago canadensis* L. and *Solidago gigantea* Ait. *J. Med. Plant Res.* **2011**, *5*, 6770–6779, doi:10.5897/JMPR11.1098.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

a. Działalność naukowo badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

W grudniu 2004 roku podjąłem swoją pracę naukową na stanowisku asystenta w ówczesnej Katedrze Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej) w zespole Pani prof. Elizy Lamer Zarawskiej. W tamtym czasie angażowałem się we wszystkie kierunki badań prowadzonych w tym laboratorium, jednocześnie rozwijałem swoje zainteresowania związane z analizą ilościową i jakościową metabolitów wtórnych będących składnikami surowców roślinnych głównie rodzin Lamiaceae i Rosaceae. Jednocześnie brałem udział w różnych badaniach nad aktywnością tych surowców i metabolitów. Badania te dotyczyły głównie właściwości antyoksydacyjnych w różnych modelach z wykorzystaniem metod spektralnych. Wynikiem tych prac była publikacja **OB1** oraz doniesienie konferencyjne **K2** dotyczące antyoksydacyjnego działania związków polifenolowych uzyskanych z liści dwóch gatunków z rodziny Rosaceae: pięciornika białego (*Potentilla alba* L.) i prągni kuklikowatej (*Waldsteinia geoides* L.), w której opracowano metodę HPLC do wstępnej analizy fitochemicznej wyciągów metanolowych z tych surowców. Uzyskane wyniki pokazały, że *P. alba* ma znacznie wyższą zawartość polifenoli, takich jak procyjanidyny, a także jest skuteczniejszym zmiataczem wolnych rodników w testach antyoksydacyjnych. Kolejnym ciekawym gatunkiem nad którego profilem fitochemicznym i bioaktywnością się skupiłem był karbieńiec rozświetlony (*Lycopus lucidus* Turcz. & Brantham L.) Gatunek ten wydał się na tyle ciekawy, że w 2007 roku stał się tematem mojego 3-letniego grantu w ramach badań własnych uczelni, zatytuowanego „Analiza fitochemiczna składników fenolowych z gatunku *Lycopus lucidus* Turcz. & Brantham, oraz ocena właściwości antyoksydacyjnych uzyskanych ekstraktów”. W tym czasie nawiązałem również współpracę z dr Michałem Hajnosem z Katedry Farmakognozji Akademii Medycznej w Lublinie w ramach mojego dwutygodniowego stażu naukowego w tamtejszej katedrze. Wspólnie opracowaliśmy skład fitochemiczny karbieńca korzystając z metody HPLC-MS, oraz sprawdziłem aktywność antyoksydacyjną tego surowca. Efektem tej współpracy była publikacja **O1** w której skorelowano potencjał antyoksydacyjny różnych wyciągów z ziela *L. lucidus* ze składem polifenolowym. Zdolność do dezaktywacji wolnych rodników zmierzono za pomocą chemicznych testów spektrofotometrycznych z użyciem rodników DPPH i NO. Siłę redukującą w stosunku do metali przejściowych zbadano metodą fosfomolibdenową. Przeprowadziliśmy również analizy jakościowe i ilościowe głównych kwasów fenolowych. Potwierdziłem, że głównym związkiem przeciwutleniającym z ekstraktu metanolowego jest dominujący kwas rozmarynowy. Innymi zidentyfikowanymi kwasami fenolowymi, które mogą wzmacniać potencjał antyoksydacyjny tego surowca były: kwasy ferulowy, kawowy, chlorogenowy, wanilinowy, p-hydroksybenzoesowy, p-kumarowy i protokatechowy. Najaktywniejszy ekstrakt octanu etylu zawierał najwyższy poziom kwasu rozmarynowego, oraz glikozydy

luteoliny, które są również ważnymi wyznacznikami aktywności przeciwutleniającej. Kontynuując badania nad gatunkiem *L. lucidus* poszerzyłem je o analizy HPLC pokrewnych gatunków *L. exaltatus* Ell., i *L. virginicus* L., Badania te prowadziłem razem z Prof. Krystyną Skalicką-Woźniak wówczas asystentem w tej samej Katedrze Farmakognozji w Lublinie, z którą również pracowałem nad właściwościami antyoksydacyjnymi owoców gatunku *Peucedanum alsaticum*. Wyniki tej współpracy były prezentowane na konferencji międzynarodowej w Lublinie **K1** w Atenach (Grecja) **K3** i Murcji (Hiszpania) **K6**.

Techniki wyodrębniania i analizę fitochemiczną związków roślinnych doskonalilem pod opieką wybitnego specjalisty w tym zakresie - pana prof. Jaromira Budzianowskiego, pod którego kierownictwem odbyłem w 2008 roku dwutygodniowy staż szkoleniowy w Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Poznaniu (obecnie Uniwersytet Medyczny w Poznaniu). Podczas stażu zajmowałem się izolacją polifenoli o budowie stilbenów z gańków *Fallopia japonica* i *F. sachalinensis*. Uzyskane wyniki prezentowane były w publikacji **O14** oraz na polskich i międzynarodowych konferencjach **K16, K22, K23**.

W 2009 roku otrzymałem stypendium naukowe na staż zagraniczny finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego UE w ramach priorytetu "Kapitał Ludzki - Programu rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu". Dzięki temu mogłem odbyć 6 miesięczny staż w Zakładzie Biologii Farmaceutycznej (Departement Pharmazeutische Biologie) Uniwersytetu w Bazylei (Szwajcaria) pod kierownictwem Prof. Matthiasa Hamburgera. W tamtym czasie pracowałem w zespole zajmującym się badaniami przesiewowymi w kierunku aktywności przeciwmalarycznej różnych substancji roślinnych. Jednym z najaktywniejszych związków pochodzenia naturalnego stosowanego obecnie w leczeniu malarii jest artemizynina. Ten wtórny metabolit wyizolowano z gatunku *Artemisia annua* z rodziny Asteraceae. Ciekawym wydało mi się sprawdzenie innych gatunków rodzaju *Artemisia* w kierunku aktywności p/malarycznej, co też zrobiłem podczas tego stażu. Materiał do badań nad którym pracowałem w Szwajcarii pochodził z kolekcji naszego Ogrodu Roślin Leczniczych przy Katedrze Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, a uzyskane wyniki były na tyle interesujące, że stały się po części tematem mojego doktoratu.

W tym zakresie przebadalem 6 gatunków *Artemisia* (*Artemisia selengensis*, *Artemisia herba-alba*, *Artemisia pontica*, *Artemisia indica*, *Artemisia stolonifera*, *Artemisia molinierii*), a także 3 gatunki szalwii (*Salvia przewalskii*, *Salvia glutinosa*, *Salvia miltiorrhiza*) oraz jeden gatunek blisko spokrewniony z szalwiami: *Perovskia atriplicifolia*. W toku pracy doktorskiej przeanalizowałem wyciągi i związki czynne wyodrębnione z tych gatunków pod kątem toksyczności dla patogenów malarii- *Plasmodium falciparum* oraz śpiączki afrykańskiej- *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Badania prowadziłem w oparciu o tzw. mikrofrakcjonowanie HPLC z monitorowaniem bioaktywności. Podczas wstępnych badań parazytologicznych nie wszystkie z wymienionych gatunków *Artemisia* wykazywały aktywność na tyle istotną, by zajmować się ich szczegółowymi analizami pod tym kątem. Zdecydowałem, że w pierwszej kolejności badane będą szalwie i *Perovskia*, które takie działanie wykazywały w stopniu znacznym. Podstawowymi niepolarnymi związkami *Salvia miltiorrhiza* i uważanej za jej „analog” pod względem kompozycji fitochemicznej *Salvia przewalskii* są diterpeny o abietanowym typie budowy szkieletu (tansziny). Bazując na doniesieniach literaturowych potwierdzających aktywność tej właśnie grupy związków wobec różnych linii nowotworów ludzkich założyłem, że ich udowodniona cytotoksyczność będzie miała odzwierciedlenie w aktywności przeciwprzerotniakowej, co również rekomendowane

jest przez WHO. Tego typu metabolity znalazłem także w korzeniach *Perovskia atriplicifolia*. Dodatkową przesłanką skłaniającą mnie do włączenia do badań gatunków *Salvia* i *Perovskia* jest fakt, że w tamtym czasie nie przeprowadzono kompleksowych badań porównujących działanie przeciwpierwotniakowe różnych związków tanszinonowych (jako związków dominujących) otrzymanych z tych gatunków. W analizie fitochemicznej korzystałem z techniki ekstrakcji przyspieszonej ASE oraz wspomaganą ultradźwiękami, chromatografi (preparatywna- CC, MPLC, PLC, analityczna- HPLC-MS) oraz z technik spektralnych do identyfikacji - tandemowej i wysokorozdzielczej spektrometri mas (MS-MS, HR-TOF-MS) oraz spektroskopię ^1H i ^{13}C NMR, również w technikach korelacyjnych. Stosując metodę HPLC-MS przeprowadziłem jakościową analizę ekstraktów (Hex, EtOAc i MeOH) z ziela i korzeni 3 gatunków z rodzaju *Salvia* i słabo dotychczas poznanego gatunku *Perovskia atriplicifolia*, łącznie 24 ekstrakty o zróżnicowanej polarności i składzie. W toku badań wyizolowałem i zidentyfikowano 18 związków, z czego 17 to tansziny i pokrewne diterpeny barwne, oraz kwas rozmarynowy. Wszystkie wyizolowane związki, należące do grupy tanszinonów, wykazywały wysoką aktywność przeciwpierwotniakową wobec patogenów (*P.falciparum* i *T.brucei rhodesiense*). Wśród nich najaktywniejszy wobec *T.brucei* był arukadiol ($\text{IC}_{50} < 0,12 \mu\text{M}$) Został on zakwalifikowany do kolejnego etapu badań *in vivo* na modelach zwierzęcych, a zatem założenie, że badane surowce będą wykazywały taką aktywność, było słuszne. Uzyskane wyniki zostały opublikowane **O2** i prezentowane na konferencjach **K10**, **K13**, **K14**. Niektóre z wyodrębnionych tanszinonów wykazywały znaczną aktywność wobec linii komórkowej raka trzustki (MIAPaCa-2), te wyniki również zostały opublikowane **O3**.

Dalsze badania przesiewowe w których uczestniczyłem obejmowały aktywność antyoksydacyjną (testy oparte na różnych mechanizmach działania) *in vitro* oraz zahamowania enzymów związanych z przebiegiem stanów zapalnych (elastazy, kolagenazy). Uzupełnieniem zestawu testów bioaktywności było sprawdzenie ewentualnych właściwości mutagennych, antymutagennych lub komutagennych w prostych eksperymentach na komórkach bakteryjnych (testy Ames), oraz ocena cytotoksyczności wyizolowanych związków na linii szczurzych komórek mięśniowych L6. W testach antyoksydacyjnych wysoką aktywnością charakteryzowały się prawie wszystkie metanolowe wyciągi z opisanych gatunków roślin. Najaktywniejsze były uzyskane z korzeni i ziela *Salvia miltiorrhiza*. Wysoką aktywność antyoksydacyjną ekstraktów polarnych z badanych roślin można przypisać zawartości depsydów kwasu kawowego- kwasów: rozmarynowego, salwianolowych i litospermowego. Z kolei w ekstrakcie heksanowym ziela *Perovskia* (jednym z najsilniej działających spośród badanych) za właściwości antyoksydacyjne mogą odpowiadać zidentyfikowane metodą HPLC-MSⁿ, lipofilne diterpeny, takie jak karnozol, kwas karnozowy i rosmanol. Brak prostych zależności wyjaśniających różnice w działaniu wymaga dodatkowych testów z uwzględnieniem innych modeli.

Testy enzymatyczne, które przeprowadziłem ujawniły wysoką zdolność inhibicyjną analizowanych wyciągów, względem enzymów proteolitycznych (elastazy i kolagenazy). W przypadku ekstraktów metanolowych z *Salvia miltiorrhiza* i *Perovskia atriplicifolia* była ona nawet wyższa niż związku referencyjnego. Silniejsze zahamowanie elastazy (do 100%) wykazywał bogaty w tansziny ekstrakt heksanowy korzenia *S.miltiorrhiza* i ekstrakty z ziela *Perovskia*. Kolagenaza była hamowana najsilniej przez wyciągi- heksanowy i octanu etylu z ziela *S.przewalskii* oraz wyciągi metanolowe z korzeni wszystkich szatwii (efekt rzędu 80%). Właściwości te wymagają bliższego zbadania, by lepiej wyjaśnić mechanizmy zahamowania i wzajemne oddziaływania poszczególnych

komponentów wchodzących w skład tych surowców roślinnych. Po raz pierwszy tak kompleksowo przebadalem gatunek *P.atriplicifolia*, wówczas rzadko jeszcze opisywany w publikacjach naukowych. Izolacja niektórych tanszinoń z tego gatunku wcześniej nie była opisywana w literaturze, po raz pierwszy wyodrębniłem 3 nowe związki dla tego gatunku: β -hydroksytanszinoń II A, arukadiol i 1-oksomiltiron. Dla głównego związku, kryptotanszinońu ta roślina może być podstawowym źródłem jego pozyskiwania, ze względu na wysoką zawartość i prostotę procedur ekstrakcji. Ponadto w ziele stwierdziłem obecność znaczących ilości karnozolu i kwasu karnozowego, związków o dużym potencjale leczniczym, co tym bardziej czyni ten gatunek godnym zainteresowania. Natomiast *Salvia glutinosa* to europejski gatunek prawie nie znany ziołolecznictwu, a jak wykazały moje badania również bogaty w aktywne związki m.in. kwas rozmarynowy, i tanszinońy. Analizując wyniki mojej pracy można stwierdzić, iż gatunek ten, łatwo dostępny w Europie, po dalszych badaniach mógłby być również używany jako źródło roślinnych substancji leczniczych. Wyniki zostały opublikowane oraz prezentowane na wielu zagranicznych i krajowych wystąpieniach naukowych. , **K15, K17, K18, K20**. Wszystkie badane wyciągi zostały też skontrolowane pod kątem działania mutagennego i antymutagennego, z wykorzystaniem testu Ames na szczepie TA100 *Salmonella typhimurium*, względem wzorcowego mutagenu chemicznego NQNO. Żaden z analizowanych ekstraktów w teście krążkowo-dyfuzyjnym nie działał mutagenie. Tylko gatunek *Perovskia atriplicifolia* w teście antymutagennym wyraźnie uszkadzał komórki bakterii *Salmonella typhimurium* w wyniku działania cytotoksycznego. Wyjaśnienie komutagennego działania analizowanych ekstraktów wymaga rozszerzenia tych badań na inne szczepy i rodzaje mutagenów, po to by lepiej poznać te mechanizmy.

b. Działalność naukowo badawcza po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Po obronie pracy doktorskiej w lutym 2013 roku, moje działania naukowe wiązały się głównie z analizami HPLC-MS, oraz testami biologicznymi, które przeprowadzane są w mojej macierzystej katedrze. Jednocześnie zainteresowałem się metabolomiką roślin w której do analiz wykorzystuje się metody spektralne HPLC-HRMS i NMR. W 2014 roku rozpocząłem staż podoktorski w ramach stypendium finansowanego grantem Narodowego Centrum Nauki - Fuga w laboratorium Biochemii i Jakości Plonów w Instytucie Upraw Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach . Moim opiekunem była Pani prof. Anna Stochmal. Jako post-doc uczyłem się analiz metabolomicznych na wybranych roślinach leczniczych (*Perovskia atriplicifolia*, *Salvia miltiorrhiza*, *Salvia przewalskii*, *Salvia glutinosa*, , *Belamcanda chinensis*, *Scutellaria baicalensis*) w oparciu o analityczne techniki spektroskopowe NMR i spektralne MS, oraz wielowymiarowej analizy zmienności, wtórnych metabolitów roślinnych pod wpływem czynników biotycznych i abiotycznych. Wiodącym eksperymentem biologicznym były badania z użyciem systemów do upraw bezglebowych (aeroponicznych). W tym doświadczeniu wyselekcjonowałem 2 gatunki do dalszej uprawy *Belamcanda chinensis* oraz *Salvia Przewalskii* jako najbardziej obiecujące w uprawie całorocznej. Prowadziłem również analizę sezonowej zmienności metabolitów wtórnych w korzeniach tych roślin. Uzyskane wyniki zaprezentowałem na czterech konferencjach międzynarodowych i jednej krajowej w formie 7 posterów i jednej prezentacji ustnej, oraz dwóch publikacji naukowych. **05, 06 oraz K27, K28, K29, K30, K33, K36, K38**

Wymiernym efektem jaki osiągnąłem dzięki przeprowadzonym badaniom w zakresie różnic metabolomicznych między gatunkami *Perovskia atriplicifolia* oraz

Perovskia abrotanoides, jest praca eksperymentalna z analizy porównawczej transkryptomiki tych gatunków rodzaju *Perovskia*, która była realizowana przez Panią Dr. Monikę Bielecką z Zakładu Biotechnologii Wydziału Farmacji we Wrocławiu. Część tych wyników, których jestem współautorem ukazała się już w formie publikacji **020**, **021** i doniesień konferencyjnych **K43**, **K45**, reszta jest w fazie przygotowania do publikacji.

W tym samym czasie, w ramach wieloletniej współpracy międzynarodowej Katedry Biologii i Botaniki Farmaceutycznej z Centrum Biotechnologii Morskiej Uniwersytetu Algarve (Portugalia) brałem udział w kompleksowych projektach badania roślin ekstremofilnych, jako źródła wysoce aktywnych biologicznie substancji. Mój udział w tych badaniach opiera się na wykonywaniu i interpretacji analiz metabolomicznych materiału roślinnego (UHPLC-MS), w tym polifenoli gatunku *Polygonum maritimum*, a wyniki zawarte są w publikacjach **09**, **012**, **013**, **023**.

Wykonywałem także szereg analiz w celu identyfikacji jakościowej i ilościowej związków z grupy, fenolokwasów, flawonoidów, diterpenów, oraz saponin dla różnych mieszanin roślin w formulacji paszowej. W tym zakresie ściśle współpracuję z panem prof. Adamem Cieślakiem z Katedry Żywnienia Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Wspólnie opublikowaliśmy wiele prac dotyczących analiz fitochemicznych roślin, w tym roślin leczniczych wchodzących w skład mieszanek paszowych dla zwierząt **08**, **011**, **016**, **017**, **019**, **025**

Między innymi, analizowałem profil fitochemiczny gatunku *Coleus amboinicus*. Lour **07** czy *Paulownia hybrid* **018**, **024**, korzystając z techniki HPLC/MS. We wszystkich tych pracach zajmowałem się analizami i interpretacją wyników uzyskanych metodą LC-MS.

W mniejszym stopniu przeanalizowano materiał roślinny pochodzący z gatunku *Stevia rebaudiana*, ponieważ jego duża zmienność w uprawie nie pozwoliła na uzyskanie satysfakcjonujących wyników, praca wymaga dodatkowych badań i jak do tej pory wyniki zostały zaprezentowane na konferencjach **K24**, **K37**. Przeprowadziłem również analizę porównawczą profilu fitochemicznego kawy różnego pochodzenia, a wyniki zostały opublikowane **022**.

Część uzyskanych wyników została już opublikowana, pozostałe są w trakcie interpretacji i będą opublikowane w niedalekiej przyszłości.

Pełniłem też funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Pani Izabeli Nawrot-Hadzik, brałem też udział w jej badaniach nad profilem fitochemicznym i bioaktywnością przeciwdrobnoustrojową i przeciwutleniającą związków fenylopropanoidowych, stilbenów i antrachinonów w roślinach z rodzaju *Reynoutria*, a uzyskane wyniki zostały opublikowane **014**. Przeprowadziłem również analizę HPLC-MS z kłaczy rośliny *Anemarrhenae asphodeloides*, bogatej w mangiferynę z grupy ksantonów, a uzyskane wyniki zostały opublikowane **015**.

W ramach podjętej doraźnie współpracy z oddziałem ratunkowym szpitala uniwersyteckiego, opracowałem metodę HPLC-MS, umożliwiającą identyfikację toksyn cisu pospolitego *Taxus bacata* i ich metabolitów w płynach ustrojowych, treści żołądkowej i odwarach. Opracowanie tej metody było spowodowane koniecznością natychmiastowego potwierdzenia obecności tych substancji w przebiegu zagrażającego życiu zatrucia samobójczego odwarem z cisowych liści. Wyniki tych prac, uzupełniających toksykologiczne studium przypadku, ukazały się w formie publikacji **04**.

Pozostałe publikacje oryginalne z IF

- 01** Ślusarczyk S., Hajnos M., Skalicka-Woźniak K., Matkowski A. Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz, 2009, *Food Chemistry*, 113, 1, 10.1016/j.foodchem.2008.07.037
- 02** Ślusarczyk S., Zimmermann S., Kaiser M., Matkowski A., Hamburger M., Adams M., Antiplasmodial and antitrypanosomal activity of tanshinone-type diterpenoids from *Salvia miltiorrhiza*, *Planta Medica*, 2011, 77, 14, 1594-1596
- 03** Fronza M., Murillo R., Ślusarczyk S., Adams M., Hamburger M., Heinzmann B., Laufer S., Merfort I. In vitro cytotoxic activity of abietane diterpenes from *Peltodon longipes* as well as *Salvia miltiorrhiza* and *Salvia sahendica*, 2011, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 19, 16, 10.1016/j.bmc.2011.06.067
- 04** Kobusiak-Prokopowicz M., Marciniak A., Ślusarczyk S., Ściborski K., Stachurska A., Mysiak A., Matkowski A. A suicide attempt by intoxication with *Taxus baccata* leaves and ultra-fast liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry, analysis of patient serum and different plant samples: Case report, 2016, *BMC Pharmacology and Toxicology*, 17, 1, 41, 10.1186/s40360-016-0078-5
- 05** Miroliaei M., Aminjafari A., Ślusarczyk S., Nawrot-Hadzik I., Rahimmalek M., Matkowski A. Inhibition of glycation-induced cytotoxicity, protein glycation, and activity of proteolytic enzymes by extract from *Perovskia atriplicifolia* Roots, 2017, *Pharmacognosy Magazine*, 13, 51, 10.4103/pm.pm_559_16
- 06** Senol F.S., Ślusarczyk S., Matkowski A., Pérez-Garrido A., Girón-Rodríguez F., Cerón-Carrasco J.P., den-Haan H., Peña-García J., Pérez-Sánchez H., Domaradzki K., Orhan I.E. Selective in vitro and in silico butyrylcholinesterase inhibitory activity of diterpenes and rosmarinic acid isolated from *Perovskia atriplicifolia* Benth. and *Salvia glutinosa* L., 2017, *Phytochemistry*, 133, 10.1016/j.phytochem.2016.10.012
- 07** Yanza Y.R., Szumacher-Strabel M., Bryszak M., Gao M., Kolodziejski P., Stochmal A., Ślusarczyk S., Patra A.K., Cieslak A. *Coleus amboinicus* (Lour.) leaves as a modulator of ruminal methanogenesis and biohydrogenation in vitro. 2018, *Journal of Animal Science*, 96, 11, 10.1093/jas/
- 08** Váradyová Z., Mravčáková D., Babják M., Bryszak M., Grešáková L., Čobanová K., Kišidayová S., Plachá I., Königová A., Cieslak A., Ślusarczyk S., Pecio L., Kowalczyk M., Várady M. Effects of herbal nutraceuticals and/or zinc against *Haemonchus contortus* in lambs experimentally infected, 2018, *BMC Veterinary Research*, 14, 1, 78, 10.1186/s12917-018-1405-4
- 09** Rodrigues M.J., Ślusarczyk S., Pecio Ł., Matkowski A., Salmas R.E., Durdagi S., Pereira C., Varela J., Barreira L., Custódio L. In vitro and in silico approaches to appraise

Polygonum maritimum L. as a source of innovative products with anti-ageing potential, 2018, *Industrial Crops and Products*, 111, 10.1016/j.indcrop.2017.10.046

- 010** Bielecka M., Zielińska S., Pencakowski B., Stafiniak M., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A. Age-related variation of polyphenol content and expression of phenylpropanoid biosynthetic genes in *Agastache rugosa*, 2019, *Industrial Crops and Products*, 141, 111743, 10.1016/j.indcrop.2019.111743
- 011** Mravčáková D., Váradyová Z., Kopčáková A., Čobanová K., Grešáková L., Kišidayová S., Babják M., Dolinská M.U., Dvorožňáková E., Königová A., Vadlejch J., Cieslak A., Ślusarczyk S., Várady M. Natural chemotherapeutic alternatives for controlling of haemonchosis in sheep, 2019, *BMC Veterinary Research*, 15, 1, 302, 10.1186/s12917-019-2050-2
- 012** Rodrigues M.J., Monteiro I., Placines C., Castañeda-Loaiza V., Ślusarczyk S., Matkowski A., Pereira C., Pousão P., Custódio L. The irrigation salinity and harvesting affect the growth, chemical profile and biological activities of *Polygonum maritimum* L., 2019, *Industrial Crops and Products*, 139, 111510, 10.1016/j.indcrop.2019.111510
- 013** Rodrigues M.J., Matkowski A., Ślusarczyk S., Magné C., Poleze T., Pereira C., Custódio L. Sea knotgrass (*Polygonum maritimum* L.) as a potential source of innovative industrial products for skincare applications, 2019, *Industrial Crops and Products*, 128, 10.1016/j.indcrop.2018.11.038
- 014** Nawrot-Hadzik I., Ślusarczyk S., Granica S., Hadzik J., Matkowski A. Phytochemical diversity in rhizomes of three Reynoutria species and their antioxidant activity correlations elucidated by LC-ESI-MS/MS analysis, 2019, *Molecules*, 24, 6, 1136, 10.3390/molecules24061136
- 015** Piwowar A., Rembiałkowska N., Rorbach-Dolata A., Garbiec A., Ślusarczyk S., Dobosz A., Długosz A., Marchewka Z., Matkowski A., Saczko J. Anemarrhenae asphodeloides rhizoma extract enriched in mangiferin protects PC12 cells against a neurotoxic agent-3-nitropropionic acid, 2020, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 7, 2510, 10.3390/ijms21072510
- 016** Mravčáková D., Komáromyová M., Babják M., Dolinská M.U., Königová A., Petrič D., Čobanová K., Ślusarczyk S., Cieslak A., Várady M., Váradyová Z. Anthelmintic activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) and mallow (*malva sylvestris* L.) against *Haemonchus contortus* in sheep, 2020, *Animals*, 10, 2, 2019, 10.3390/ani10020219
- 017** Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Čobanová K., Kišidayová S., Cieslak A., Ślusarczyk S., Váradyová Z. Effect of dry medicinal plants (wormwood, chamomile, fumitory and mallow) on in vitro ruminal antioxidant capacity and fermentation patterns of sheep, 2020, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104, 5, 10.1111/jpn.13349
- 018** Huang H., Szumacher-Strabel M., Patra A.K., Ślusarczyk S., Lechniak D., Vazirigohar M., Váradyová Z., Kozłowska M., Cieślak A. Chemical and phytochemical composition, in vitro ruminal fermentation, methane production, and nutrient degradability of fresh and ensiled *Paulownia* hybrid leaves, 2021, *Animal Feed Science and Technology*, 279, 115038, 10.1016/j.anifeedsci.2021.115038

- 019** Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Kišidayová S., Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Huang H., Kolodziejcki P., Lukomska A., Ślusarczyk S., Čobanová K., Váradyová Z. Impact of Zinc and/or Herbal Mixture on Ruminant Fermentation, Microbiota, and Histopathology in Lambs, 2021, *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 630971
10.3389/fvets.2021.630971
- 020** Bielecka M., Pencakowski B., Stafiniak M., Jakubowski K., Rahimmalek M., Gharibi S., Matkowski A., Ślusarczyk S. Metabolomics and DNA-Based Authentication of Two Traditional Asian Medicinal and Aromatic Species of *Salvia* subg. *Perovskia*, 2021, *Cells*, 10, 1, 10.3390/cells10010112
- 021** Stafiniak M., Ślusarczyk S., Pencakowski B., Matkowski A., Rahimmalek M., Bielecka M. Seasonal variations of rosmarinic acid and its glucoside and expression of genes related to their biosynthesis in two medicinal and aromatic species of *Salvia* subg. *Perovskia*, 2021, *Biology*, 10, 6, 458 10.3390/biology10060458
- 022** Várady M., Ślusarczyk S., Boržikova J., Hanková K., Vieriková M., Marcinčák S., Popelka P. Heavy-metal contents and the impact of roasting on polyphenols, caffeine, and acrylamide in specialty coffee beans, 2021, *Foods*, 10, 6, 1310 10.3390/foods10061310
- 023** Rukavina I., Rodrigues M.J., Pereira C.G., Mansinhos I., Romano A., Ślusarczyk S., Matkowski A., and Custódio L., Greener Is Better: First Approach for the Use of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) to Extract Antioxidants from the Medicinal Halophyte *Polygonum maritimum* L. 2021, *Molecules*, 26, 6136. <https://doi.org/10.3390/molecules26206136>
- 024** Puchalska J., Szumacher-Strabel M., Kumar C.P., Ślusarczyk S., Gao M., Petrič D., Nabzdyk M., and Cieślak A., The effect of different concentrations of total polyphenols from *Paulownia* hybrid leaves on ruminal fermentation, methane production and microorganisms. 2021, *Animals*, 11, 2843. <https://doi.org/10.3390/ani111028>
- 025** Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Kišidayová S., Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Huang H., Kolodziejcki P., Lukomska A., Ślusarczyk S., Čobanová K., and Váradyová Z., Impact of Zinc and/or Herbal Mixture on Ruminant Fermentation, Microbiota, and Histopathology in Lambs. 2021, *Front. Vet. Sci.* 8:630971. doi: 10.3389/fvets.2021.630971

Pozostałe publikacje oryginalne bez IF

- OB1** Matkowski A., Świąder K., Ślusarczyk S., Jezierska-Domaradzka A., Oszmiański J., Free radical scavenging activity of extracts obtained from cultivated plants of *Potentilla alba* L. and *Waldsteinia geoides* L. *Herba Pol.*, 2006, 52, 4, 91-97

- OB2** Rodrigues M.J., Monteiro I., Placines C., Castañeda-Loaiza V., Ślusarczyk S., Matkowski A., Pereira C., Pousão-Ferreira P., Custódio L. Dataset on functional and chemical properties of the medicinal halophyte *Polygonum maritimum* L. under greenhouse cultivation, 2019, *Data in Brief*, 25, 104357, 10.1016/j.dib.2019.104357

Publikacje popularno-naukowe

- P1** Ślusarczyk S., WZW - wirusowe zapalenie wątroby, *Świat Farm.* 2006 maj s.9-11.
P2 Ślusarczyk S., Żeń-szeń, *Świat Farm.* 2006 wrzesień s.30-32.

Rozdziały w monografiach

- B1** Woźniak D., Kuś P., Ślusarczyk S., Matkowski A., Kłącze *Belamcanda chinensis* jako źródło biologicznie aktywnej mangiferyny (Mangiferin - the biologically active xanthone from *Belamcanda chinensis* rhizomes). *Substancje pochodzenia roślinnego oraz ich zastosowanie w terapii naturalnej i kosmetyce* Wrocław 2008, Wyższa Szkoła Fizjoterapii,
B2 Woźniak D., Nawrot-Hadzik I., Kozłowska W., Ślusarczyk S., Matkowski A. (2021) Caffeoylquinic Acids. In: Xiao J., Sarker S.D., Asakawa Y. (eds) *Handbook of Dietary Phytochemicals*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4148-3_23

Udział w międzynarodowych lub krajowych konferencjach naukowych

- K1.** Ślusarczyk S., Matkowski A., Świąder K., Gleńsk M., Analysis Of The Antioxidant Phenolic Compounds In *Lycopus Lucidus* L Extracts Using Tlc And Rp-Hplc 5th International Symposium On Chromatography Of Natural Products (Iscnp) "The Application Of Chromatographic Methods In Phytochemical & Biomedical Analysis". Lublin (Poland), June 19-22, 2006
K2. Świąder K., Ślusarczyk S., Matkowski A., Oszmiański J., Antyoksydacyjne działanie związków polifenolowych uzyskanych z liści dwóch gatunków z rodziny rosaceae: pięciornika białego (*Potentilla alba* L.) i pragnii kuklikowatej (*Waldsteinia geoides* L.). Konferencja "Współczesna fitoterapia - działania niepożądane i interakcje". Poznań, 7 listopada 2006.
K3. Skalicka-Woźniak K., Głowniak K., Ślusarczyk S, Matkowski A., Szypowski J., Phenolic Acids In Fruits Of *Peucedanum Alsaticum* - Antioxidant Activity. *Planta Med.* 2008 Vol.74 No.9 S.135-136 Poz.Pb4, Bibliogr. 9 Poz, 7th Joint Meeting Of Aferp, Asp, Ga, Pse & Sif. Athens, Greece, August 3rd - 8th, 2008.
K4. Kuś P., Woźniak D., Ślusarczyk S., Zieliński P., Matkowski A., Kłącze *Belamcanda chinensis* Jako Źródło Biologicznie Aktywnej Mangiferyny. W: Międzyuczelniana Naukowa Konferencja Studencka "Związki Pochodzenia Roślinnego Orz Ich Zastosowanie W Terapiach Naturalnych". Wrocław, 12 Stycznia 2008

- K5.** Woźniak D., Oleszek W., Janda B., Kapusta I., Kuś P., Ślusarczyk S., Matkowski A., Isolation And Purification Of Mangiferin From *Belamcanda Chinensis* - An Alternative Source Of An Antioxidant Xanthone C-Glucoside.. W: 6th International Symposium On Chromatography Of Natural Products (Iscnp) "The Application Of Chromatographic Methods In Phytochemical & Biomedical Analysis". Lublin, 15-18 June 2008.
- K6.** Ślusarczyk S., Skalicka-Woźniak K., Pawłowska K., Matkowski A., Phenolic Acids And Flavonoids In Three *Lycopus* Species And Their Antioxidants Potency W: Young Scientists Meeting "Future Trends In Phytochemistry In The Global Era Of Agri-Food And Health". Murcia (Spain), May 12th-14th, 2009.
- K7.** Ślusarczyk S., Woźniak D., Matkowski A., Plitzko I., Hamburger M., Isolation And Purification Of Two Isoflavones (Tectoridin And Iridin) From *Belamcanda Chinensis*, Iridaceae, Swiss Pharma Science Day 2009. Bern, 2. September 2009
- K8.** Jamiołkowska W., Ślusarczyk S., Matkowski A. Gc-MS Analysis Of Commercial Freshly Hydrodistilled Juniper And Scots Pine Essential Oils. W: 7th International Symposium On Chromatography Of Natural Products Joined With 6th International Symposium Of The International Society For The Development Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), June 14-17, 2010
- K9.** Ślusarczyk S., Zieliński P., Świerczyński M., Hamburger M., Matkowski A., Antioxidant Tannins From Docks - Extraction And Chromatographic Analysis Of *Hydrolapathi Radix*.. W: 7th International Symposium On Chromatography Of Natural Products Joined With 6th International Symposium Of The International Society For The Development Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), June 14-17, 2010
- K10.** Ślusarczyk S., Kocyba J., Paturi B., Woźniak D., Matkowski A. Bioactivity Of Tanshinones And Rosmarinic Acid From Roots Of *Perovskia Atriplicifolia*. Conference Of Bioactive Plant Compounds - Structural And Applicative Aspects. Puławy, Poland, September 12nd-14th, 2011.
- K11.** Nawrot I., Zmora P., Szumacher-Strabel M., Matkowski, A., Ślusarczyk S., Pers-Kamczyc E., Cieślak A., Would *Sanguisorbae Radix* Protect The World From Greenhouse Effect? The Effect Of Gallotannin-Enriched Fraction On In Vitro Methanogenesis In Rumen Fluid. 8th International Symposium On Chromatography Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), May 17-20, 2012
- K12.** Nawrot I., Zmora P., Szumacher-Strabel M., Nawrot A., Ślusarczyk S., Pers-Kamczyc E., Cieślak A., Matkowski A., The Effect Of Gallotannin-Enriched Fraction From *Sanguisorba Officinalis* On In Vitro Methanogenesis In Rumen Fluid.. 10th International Symposium On Pharmaceutical Sciences ,Ankara, Turkey, June 26-29, 2012.
- K13.** Ślusarczyk S., Adams M., Matkowski A., Zimmermann S., Kaiser M., Brun R., Kulbacz A., Hamburger M., Tanshinones From *Salvia Glutinosa* And Their Antiprotozoal Activity 8th International Symposium On Chromatography Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), May 17-20, 2012.

- K14.** Ślusarczyk S., Woźniak D., Adams M., Hamburger M., Zimmermann S., Kocyba J., Miroliaei M, Matkowski A., Perovskia Ornamental Variety As A Source Of Bioactive Tanshinones And Rosmarinic Acid. 8th International Symposium On Chromatography Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), May 17-20, 2012.
- K15.** Ślusarczyk S., Woźniak D, Adams M., Hamburger M., Zimmermann S., Kocyba J., Miroliaei M., Matkowski A., Bioactivity Of Diterpenoid Quinones And Rosmarine Acid From Cultivated Perovskia Atriplicifolia.. 10th International Symposium On Pharmaceutical Sciences (Isops-10). Ankara, Turkey, June 26-29, 2012.
- K16.** Nawrot I., Jzierska-Domaradzka A., Nawrot A., Ślusarczyk S., Matkowski A., Allelopathic And Antioxidant Properties Of Tannin Fractions From Two Tcm Herbs - Polygoni Cuspidati Rhizoma And Sanguisorbae Radix. 2nd International Conference And Workshop "Plant - The Source Of Research Material". Lublin, 18-20.10.2012.
- K17.** Ślusarczyk S., Adams M., Hamburger M., Zimmermann S., Matkowski A., Red Tanshinones - Promising Constituents Against Trypanosoma Protozoan. W: International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 3-6 November 2013
- K18.** Ślusarczyk S, Tomaszewska J., Kichimasova Y.S., Matkowski A., Red And Healthy-On Phytochemistry And Bioactivity Of Tanshinones, 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya (Turkey), November 2-5, 2013.
- K19.** Ślusarczyk S., Zieliński P., Świerczyński M., Nawrot I., Matkowski A., Woźniak D., Docks As Source Of Antioxidants-Polyphenol Content And Antioxidant Activity Of Roots From Three Wild Rumex Sp. Emir. J. Food Agric. 2013 Vol.25 Suppl. S.72 Poz. Pp-144, 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya (Turkey), November 2-5, 2013.
- K20.** Ślusarczyk S., Adams M, Hamburger M., Zimmermann S., Kacprzak E., Kulbacz A., Tomaszewska J, Matkowski A., Czerwone Dla Świdrowców - Tanszinony z rodzajów Salvia i Perovskia oraz ich aktywność przeciwprzewodniakowa. W: Iii Krajowa Konferencja "Naturalne Substancje Roślinne Aspekty Strukturalne I Aplikacyjne". Puławy, 4-6 Września 2013
- K21.** Nawrot I., Sokołowski P., Ślusarczyk S., Topolski J., Kucharski M, [Nna] Jeziarska-Domaradzka A., Domaradzki K., Matkowski A., Antrachinony w inwazyjnych gatunkach rodzaju Fallopia , Krajowa Konferencja "Naturalne Substancje Roślinne Aspekty Strukturalne I Aplikacyjne". Puławy, 4-6 Września 2013
- K22.** Nawrot I., Sokołowski P., Topolski J., Ślusarczyk S., Kucharski M., Hadzik J., Matkowski A., Anthraquinones In The Invasive Species Of Fallopia.. 3rd International Conference And Workshop "Plant - The Source Of Research Material". Lublin, Poland, 16th-18th October 2013
- K23.** Nawrot I., Sokołowski P., Ślusarczyk S, Topolski J., Kucharski M., Jeziarska-Domaradzka A, Domaradzki K., Matkowski A., Woźniak D., Anthraquinones In The Invasive Giant Knotweeds (Fallopia Sp.-Polygonaceae) From Poland. 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya (Turkey), November 2-5, 2013.

- K24.** Ślusarczyk S., Libik M., Michalec Ż., Czapecka E., Skarbek P., Topolski J., Domaradzki K., Matkowski A., Analysis Of Steviol Glycosides And Antioxidant Polyphenols In Micropropagated Stevia Rebaudiana Using Uplc/Ms/Ms Young Scientists Meeting "Trends In Natural Products Research". Olomouc, Czech Republic, June 23-25, 2014
- K25.** Matkowski A., Jezierska-Domaradzka A., Nawrot I., Domaradzki K., Gołąb K., Dołowacka A., Gburek J., Ślusarczyk S., Woźniak D., Noxious But Useful - Invasive Plants As Source Of Bioactive Compounds. The Case Of Fallopia And Solidago.. W: 4th International Conference And Workshop "Plant - The Source Of Research Material". Lublin, 20-23.09.2015.
- K26.** Matkowski A., Aminjafari A., Miroliaei M., Rahimalek M., Ślusarczyk S., Phytochemical composition and bioactivity of extracts from two Perovskia species. 2nd International Conference on Natural Products Utilization "From plants to pharmacy shelf". Plovdiv, Bulgaria, 14-17 October 2015, s.223 poz.PP133.
- K27.** Ślusarczyk S., Pecio Ł., Stochmal A., Matkowski A., Three New Natural Compounds Isolated From Perovskia Atriplicifolia Roots. W: Trends In Natural Products Research : A Young Scientists Meeting Of Pse And Iung-Pib. Puławy, Poland, 30th May - 2nd June 2016.
- K28.** Ślusarczyk S., Pawlikowska A., Jaśpińska J., Stochmal A., Domaradzki K., Matkowski A., Silicon Modulates Salt-Stress Response In Medicinal Plants W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants In Pharmacy And Nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016.
- K29.** Ślusarczyk S., Practical Aspect Of Using Metabolomic Approach In Medicinal Plants Analysis. W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants In Pharmacy And Nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016.
- K30.** Ślusarczyk S., Pecio Ł, Stochmal A., Jaspińska J., Rahimmalek M., Matkowski A., Nmr And Lc-Tof-Ms Metabolomic Analysis Reveals Inter- And Intraspecific Variation And Osmotic Stress Response Of Chemical Profile In Perovskia Species. 9th Joint Meeting Of Aferp, Asp, Ga, Jsp, Pse & Sif. Copenhagen, Denmark, July 24-27, 2016. Abstracts. Toż: 9th Joint Natural Products Conference 2016.
- K31.** Matkowski A., Zielińska S., Libik-Konieczny M., Konieczny R., Kozłowska W., Ślusarczyk S., How Stressed Plants Can Help Stressed Humans? On The Role Of Oxidative Stress Response In Biosynthesis Of Bioactive Metabolites. The 12th National Symposium With International Participation "Medicina Plants - Present And Perspectives". Piatra Neamt, Romania, September 6-9, 2016
- K32.** Nawrot-Hadzik I., Szandruk M., Kazana A., Ślusarczyk S., Matkowski A., Antioxidant Properties Of The Sanguisorbae Herba And Sanguisorbae Radix Extracts.. W: The 12th National Symposium With International Participation "Medicina Plants - Present And Perspectives". Piatra Neamt, Romania, September 6-9, 2016
- K33.** Ślusarczyk S., Jaśpińska J., Surma M., Matkowski A., Stochmal A., Domaradzki K., Aeroponic Cultivation Of Asian Medicinal Plants. 2nd International Young Scientists Symposium "Plants In Pharmacy And Nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016.
- K34.** Woźniak D., Ślusarczyk S., Nowak M., Szumera M., Matkowski A., Goldenrod - comparison of Solidago canadensis L. and Solidago gigantea Ait. W: 2nd International

Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts Wrocław 2016

- K35.** Kobusiak-Prokopowicz M., Marciniak A., Ślusarczyk S., Ściborski K., Stachurska R., Matkowski A., Mysiak A., Intensive cardiac care in a patient intoxicated with *Taxus baccata*. *Resuscitation* 2016 Vol.106 suppl.1 s.e25 poz.AP007, Resuscitation 2016 - ERC Congress on Education. Reykjavik (Iceland), 24-25 September 2016.
- K36.** Ślusarczyk S., Sezer Senol F., Matkowski A., Perez Garrido A., Giron Rodriguez F., Ceron-Carrasco J.P., Den Haan H., Pena Garcia J., Perez Sanchez H., Erdogan I.Orhan, Kowalczyk M., Stochmal A. Selective In Vitro And In Silico Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity Of Diterpenes And Polyphenols From Traditional Asian Medicinal Plants, 65th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research. Basel, Switzerland, 3-7 September 2017
- K37.** Libik M., Woźniak D., Capecka E., Michalec Ž., Łągiewka K., Mura E., Ślusarczyk S., Matkowski A., Influence Of Cultivation Conditions And Stress Treatment On Polyphenol Profile And Antimutagenic Activity Of *Stevia rebaudiana*. 3rd International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 18-21 October 2017
- K38.** Ślusarczyk S., Jaspińska J, Pecio Ł., Stochmal A, Gille E., Matkowski A., Diversity Of Diterpenoids And Polyphenols In *Salvia glutinosa* L. Analyzed Using Targeted Metabolomics Based On Lc-Qtof-Ms And 1h-Nmr, 65th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research. Basel, Switzerland, 3-7 September 2017.
- K39.** Woźniak D., Ślusarczyk S., Domaradzki K., Matkowski A., Comparison Of Polyphenol Profile And Antimutagenic And Antioxidant Activities In Two Species Used As Source Of *Solidagin* Herba - Goldenrod Herb. 3rd International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 18-21 October 2017
- K40.** Woźniak D., Bęben M., Ślusarczyk S., Matkowski A., Antioxidant And Antimutagenic Activity Of Main Isoflavones, Xanthones, And Stilbenes From *Belamcandae chinensis* Rhizoma.. 3rd International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 18-21 October 2017
- K41.** Stochmal A., Cieślak A., Ślusarczyk S., Kowalczyk M., Pecio Ł, Yanza Y.R., Min G., Bryszak M., Rodriguez V. R., Szumacher-Strabel M. Potential of bioactive substances of *Perovskia atriplicifolia* Benth. roots to modulate ruminal fiber degradability and methanogenesis. 2nd International Symposium on Phytochemicals in Food and Medicine. Fuzhou, China, April 7-10, 2017. Abstracts, s.213-214 poz.P86, bibliogr. 2 poz.
- K42.** Cieślak A., Ślusarczyk S., Pecio Ł., Kowalczyk M., Szumacher-Strabel M., Yanza Y.R., Min G., Bryszak M., Stochmal A. Basic rumen parameters and methane production after supplementing diet with roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi. 2nd International Symposium on Phytochemicals in Food and Medicine. Fuzhou, China, April 7-10, 2017. Abstracts, s.183-184 poz.P58, bibliogr. 1 poz.
- K43.** Grzelka K., Ślusarczyk S., Surma M., Matkowski A., Izograndifoliol - Nor-Diterpenoid Izolowany z gatunku *Perovskia atriplicifolia* Benth. O Aktywności Hamującej

Butyrylocholinoesterazę IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Współczesne Zastosowanie Metod Analitycznych W Farmacji I Medycynie". Wrocław, 12 Kwietnia 2019

- K44.** Kapelańczyk K., Pencakowski B., Niezgoda S., Kozłowska W., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A., Application Of Matrix Solid-Phase Dispersion For Hplc Analysis Of Polyphenol Profile In 50-Years Old Herbarium Specimens Of *Polygonum Aviculare*. 67th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research (Ga). Innsbruck, Austria, September 1-5, 2019
- K45.** Stafiniak M., Kozłowska W., Pencakowski B., Buluk M., Ślusarczyk S., Matkowski A., Rahimmalek M., Bielecka M., Variation Of Phenolic Compounds And Expression Of Phenylpropanoid Biosynthetic Genes In Two Medicinal And Aromatic Species Of *Salvia* Subg. *Perovskia*, 67th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research (Ga). Innsbruck, Austria, September 1-5, 2019
- K46.** Bielecka M., Zielińska S., Pencakowski B., Stafiniak M., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A., Age-Related Variation In Polyphenol Content And Expression Of Phenylpropanoid Biosynthetic Genes In A Medicinal And Aromatic Perennial *Agastache Rugosa* 67th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research (Ga). Innsbruck, Austria, September 1-5, 2019.

Prezentacja ustna na konferencjach krajowym i międzynarodowych

2013 „Red tanshinones of the *Salvia* and *Perovskia* genera and their antiprotozoal activity. "3rd National Conference" *Natural plant substances - structural and application aspects*” Puławy 4-6 września, (I nagroda za najlepszą prezentację)

2015 „Metabolomic approach with the analysis of a selected TCM medicinal plant” during *8th International Metabolomics Workshop*, Natural Products Laboratory Institute of Biology Leiden University, Holand 13-17 kwietnia

2016 „The practical aspect of using metabolomic approach in the analysis of medicinal plants”, II International Symposium for Young Scientists" *Plants in pharmacy and nutrition*". medicinal. Wrocław, 15-17 września

2017 „Practical aspects of the use of metabolomics in the analysis of medicinal plants focused on root samples of aeroponically grown plants. *XV Congress of the Italian Society of Phytochemistry and the 1st International Congress of Edible, Medicinal and Aromatic Plants*, Pisa, Italy 28-30 czerwca

Najważniejsza współpraca naukowa

- W1.** Współpraca z Prof Matthiasem Hamburgerem (Department of Pharmaceutical Biology, University of Basel, Switzerland) w zakresie badań parazytologicznych nad związkami pochodzenia roślinnego (*Salvia miltiohrriza*, *Salvia yangi*, *Artemisia herba alba*).

- W2.** Współpraca z Prof. Adamem Cieślakiem (Katedra Żywnienia Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej z Poznania) w zakresie analiz HPLC-MS, identyfikacji jakościowej i ilościowej wielu roślin leczniczych o potencjalnym wykorzystaniu w żywieniu zwierząt. (*Coleus amboinicus*, *Paulownia hybrid* i inne)
- W3.** Współpraca z Prof. Zorą Varadyovą (Institute of Animal Physiology, Centre of Biosciences of Slovak Academy of Sciences,) w zakresie analiz HPLC-MS, identyfikacji jakościowej i ilościowej wielu roślin leczniczych, (*Thymus vulgaris*, *Artemisia absinthium*, *Fumariae off.* , *Malvaea neglecta*, *Coffe beens*)
- W4** Współpraca z Prof. Luísa Custódio (Centre of Marine Sciences, University of Algarve, Faculty of Sciences and Technology, Faro, Portugal,) w zakresie analiz HPLC-MS, identyfikacji jakościowej i ilościowej *Polygonum maritimum*,
- W5.** Współpraca z Prof. Ilkay E. Orhan (Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Gazi University, Ankara, Turkey,) w zakresie analiz HPLC-MS, identyfikacji jakościowej i ilościowej (*Belamcanda chinesis*, *Perovskai atriplicifolia*, *Salvia glutinosa*)
- W6.** Współpraca z dr. Łukaszem Pecio z Zakładu Biochemii i Jakości Plonów IUNG Puławy w zakresie analiz jakościowych i ilościowych metodą HPLC-MS, oraz identyfikacji jakościowych techniką NMR związków pochodzenia naturalnego.
- W7.** Współpraca z dr. Moniką Bielecką z mojej macierzystej katedry w zakresie analiz HPLC-MS, identyfikacji jakościowej i ilościowej (*Agastachea rugosa*, *Salvia yangi*)
- W8.** Współpraca z dr. Małgorzatą Kobusiak-Prokopowicz z katedry Kardiologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w zakresie analiz HPLC-MS, identyfikacji jakościowej i ilościowej (*Taxus baccata*)

Udział w projektach badawczych

kierownik projektu **SONATA** nr 2020/39/D/NZ9/01402 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, „Elektroporacja pulsacyjna jako innowacyjna metoda w procesie tzw. dojzenia korzeni, wykorzystana w adaptacji upraw roślin leczniczych w warunkach bezglebowych” 2021-2024

główny wykonawca – doktorant w granie promotorskim nr 2012/07/N/NZ7/02420 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: „Nowe związki biologicznie czynne w roślinach leczniczych z rodzajów *Artemisia* i *Salvia*” 2010-2013

wykonawca w projekcie **OPUS** nr 2012/05/B/NZ9/1035 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki „Wpływ stresu oksydacyjnego na syntezę glikozydów stewiolowych w roślinach *Stevia rebaudiana* Bertoni.” 2013-2016- wykonawca projektu

wykonawca projektu **2006-2008**; ST-264/AM/2006; „Antyoksydacyjne właściwości polifenoli izolowanych z wybranych roślin tradycyjnej medycyny dalekowschodniej - *Codonopsis* sp, *Rehmannia* sp, *Salvia* sp.” - projekt badań statutowych Akademii Medycznej we Wrocławiu -

kierownik projektu **2007-2009**; 1655/2007/AM; „Analiza fitochemiczna składników fenolowych z gatunku *Lycopus lucidus* Turcz. Ex Bentham oraz ocena właściwości antyoksydacyjnych uzyskanych ekstraktów” projekt badań statutowych Akademii Medycznej we Wrocławiu

wykonawca projektu **2009-2011**; ST-411/AM/2009; „Badania właściwości biologicznych wybranych surowców roślinnych bogatych w tanoidy oraz roślin dwupiennych - projekt badań statutowych Akademii Medycznej we Wrocławiu -

Stáže naukowe

Stáže krajowe naukowe:

2014-2017 (Fuga- NCN) nr 2014/12/S/NZ9/00715 Krajowy Staż Naukowy po uzyskaniu stopnia dr. „Analiza metabolomiczna wybranych roślin leczniczych w oparciu o analityczne techniki spektroskopowe NMR oraz spektralne MS. Wielowymiarowa analiza zmienności, wtórnych metabolitów roślinnych pod wpływem czynników biotycznych i abiotycznych”, realizowany w w laboratorium Biochemii i Jakości Plonów w Instytucie Upraw Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach.

2007-Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Farmakognozji pod kierownictwem Prof. K. Głowniaka, Staż Ministerstwa Zdrowia (1 miesiąc)

2008-Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, K. I Z. Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin pod kierownictwem Prof. J. Budzianowskiego. Staż Ministerstwa Zdrowia (1 miesiąc)

Stáže zagraniczne naukowe:

2009-(6 miesięcy) Laboratorium Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Bazylei, Szwajcaria pod kierownictwem Prof. dr Matthiasa Hamburgera, stypendium naukowe programu EU "Human Capital"

2012-(miesiąc) Laboratorium Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Bazylei, Szwajcaria pod kierownictwem Prof. dr Matthiasa Hamburgera , w tym czasie zajmowałem się analizą HPLC-MS oraz identyfikacją wyizolowanych związków z *S.milthiorriza* i *P.atriplicifolia*.

W ramach programu Erasmus plus zostałem zakwalifikowany do wyjazdu na staż szkoleniowy , który odbędzie się w 2022 roku w czerwcu w Szwecji na Uniwersytecie LUND (przedwstępna umowa partnerska jest podpisana) .

Kursy i szkolenia

2009- odbyłem semestralny kurs “NMR in Drug Discovery” prowadzony przez Instytut Farmacji Molekularnej w Bazylei w Szwajcarii, pod kierunkiem dr Braiana Cuttinga

2015- “8th International Metabolomics Workshop Basics and applications to Plant Sciences”, Laboratorium Produktów Naturalnych Instytut Biologii Uniwersytet w Leiden , Holandia, 3 tygodnie

2005-2021 Brałem udział w wielu naukowych szkoleniach w ramach ciągłego ustawicznego doskazywania farmaceutów.

Nagrody i stypendia za działalność naukową

2009, czerwiec - stypendium konferencyjne Phytochemical Society of Europe na udział w konferencji PSE "Future trends in phytochemistry in the global era of agri-food and health". Murcia, Spain.

2009 6 miesięczne stypendium naukowe w ramach „Programu rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu” (Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego)

2012, Indywidualna Nagroda Rektora I stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej za cykl 3 prac naukowych dotyczących aktywności biologicznej związków wyizolowanych z roślin leczniczych

2013 I nagroda za najlepszą prezentację plakatową , III Ogólnopolska Konferencja Puławy 4-6 września

2018, Nagroda Rektora Zespołowa II stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej,

2019, Indywidualna Nagroda Rektora II stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej,

2019, Nagroda Rektora Zespołowa II stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej,

2020, Indywidualna Nagroda Rektora I stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej, za cykl 3 prac naukowych dotyczących analizy jakościowej i ilościowej związków naturalnych.

Członkostwo w towarzystwach naukowych

- Society for Medicinal Plant and Natural Product Research Gesellschaft für Arzneipflanzen- und Naturstoff-Forschung e.V. (GA)
- Phytochemical Society of Europe (PSE)
- Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne (PTFARM)

Działalność organizacyjna

Od 2020 roku jestem w składzie Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, w ramach której jestem członkiem dwóch komisji: ds. Finansowania Badań Naukowych i Prac Rozwojowych , oraz komisji do przeprowadzenia postępowań konkursowych na stanowiska nauczycieli akademickich w grupie badawczej.

Recenzje prac naukowych

Przeprowadziłem recenzje ponad 40 oryginalnych prac eksperymentalnych i prac przeglądowych dla czasopism międzynarodowych z IF, w tym dla *Molecules*, *Metabolites*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Cells*, *Foods*, *Chemistry&Biodiversity*, *Applied Sciences*, *Frontiers*, *Food Chemistry*, *Industrial Crops&Products*, *Antioxidants*, *Phytochemical letters*, *Nutrients*, *Pharmaceuticals*, *Phytochemical analysis*, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, *Veterinari Medicina*,

Podsumowanie osiągnięć naukowo-badawczych

Sumaryczne zestawienie całego dorobku naukowego

Mój dorobek naukowy to:

36 publikacje z czego:

- 6 prace przypadają na okres przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora (w tym 3 z IF), a 30 po jego uzyskaniu (30 z IF)
- 30 prac to oryginalne prace twórcze z listy JCR oraz 6 spoza listy JCR,

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Od 2005 roku biorę czynny udział zarówno w prowadzeniu, jak i organizowaniu zajęć dydaktycznych odbywających się w Katedrze Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Prowadzę ćwiczenia z Biologii, Botaniki Farmaceutycznej dla studentów I roku Farmacji i Analityki Medycznej, oraz zajęcia fakultatywne: Praktyczne oznaczanie roślin leczniczych, Praktyczne metody identyfikacji roślin i grzybów toksycznych. Problemy chemotaksonomii roślin zielarskich.

Promotor prac magisterskich:

Byłem promotorem sześciu prac magisterskich eksperymentalnych (2013-2021), opiekunem ośmiu prac magisterskich eksperymentalnych w latach (2005-2012).

Recenzje prac magisterskich:

Wykonałem recenzje siedmiu prac magisterskich eksperymentalnych.

Opieka nad studentami odbywającymi staże krajowe i zagraniczne

Pełniłem funkcję opiekuna prac doświadczalnych, wykonywanych przez studentów z Indii, Niemiec, Turcji, Iranu i Ukrainy, odbywających staże w ramach praktyk IPSF i programu Erasmus.

Byłem w komitecie organizacyjnym 2 konferencji

6 - 8 września 2017 Czwarta edycję cyklicznej Krajowej Konferencji „Naturalne substancje roślinne – aspekty strukturalne i aplikacyjne”. Puławy

Trends In Natural Products Research : A Young Scientists Meeting Of Pse And Iung-Pib. Puławy, Poland, 30th May - 2nd June 2016.

Inna działalność popularyzująca naukę

W 2010 r. brałem czynny udział w organizowaniu i prowadzeniu warsztatów dla dzieci „Sól pieprz, oregano po co aptekarzowi przyprawy” w ramach Uniwersytetu Dzieci,

W 2014 r. w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki prowadziłem wykłady i warsztaty dla uczestników, organizowanych w muzeum Farmacji we Wrocławiu.

W 2018 prowadziłem swój autorski program dla dzieci ze szkoły w Łące Prudnickiej ze znajomości i zagrożeń stosowania roślin w połączeniu z warsztatami z ziołolecznictwa aptecznego.

<https://www.facebook.com/media/set?vanity=Tygodnik.Prudnicki&set=a.2237458952948728>

W październiku 2021 prowadziłem warsztaty laboratoryjne pt”Chemotaksonomia roślin leczniczych” dla kasy patronackiej z Liceum Ogólnokształcącego nr VII im. K.K.Baczyńskiego we Wrocławiu.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

ważne



Signed by /
Podpisano przez:

Sylwester
Ślusarczyk

Date / Data:
2021-11-19 12:42

(podpis wnioskodawcy)

Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy:

1. **P-1. Ślusarczyk, S.**, Topolski, J., Domaradzki, K., Adams, M., Hamburger, M. & Matkowski, A. 2015, "Isolation and fast selective determination of nor-abietanoid diterpenoids from perovskia atriplicifolia roots using LC-ESI-MS/MS with multiple reaction monitoring", *Natural Product Communications*, vol. 10, no. 7, pp. 1149-1152.

IF: 0.88

Pkt. MNiSW: 20

Udział własny: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstraktów, rozdziały chromatograficzne, izolacja diterpenów i ich oczyszczanie. Walidacja metody LCMS. Ocena ilościowa głównych diterpenów w ekstrakcie. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

2. **P-2. Ślusarczyk, S.**, Sezer Senol Deniz, F., Abel, R., Pecio, Ł., Pérez-Sánchez, H., Cerón-Carrasco, J.P., Den-Haan, H., Banerjee, P., Preissner, R., Krzyżak, E., Oleszek, W., Orhan, I.E. & Matkowski, A. 2020, "Norditerpenoids with selective anti-cholinesterase activity from the roots of perovskia atriplicifolia benth.", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 12, pp. 1-18

IF: 5.92

Pkt. MEiN: 140

Udział własny: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstraktów, rozdziały chromatograficzne, izolacja związków i ich oczyszczanie, identyfikacja otrzymanych związków. Analizy HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Ilościowa analiza dla izolowanych związków z ekstraktu. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

3. **P-3. Ślusarczyk, S.**, Senol Deniz, F.S., Woźniak, D., Pecio, Pérez-Sánchez, H., Cerón-Carrasco, J.P., Stochmal, A., den-Haan Alonso, H., Matkowski, A. & Orhan, I.E. 2019, "Selective in vitro and in silico cholinesterase inhibitory activity of isoflavones and stilbenes from Belamcandae chinensis rhizoma", *Phytochemistry Letters*, vol. 30, pp. 261-272.

IF: 1.45

Pkt. MNiSW: 70

Udział własny: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstraktów, rozdziały chromatograficzne, izolacja związków i ich oczyszczanie, identyfikacja otrzymanych związków. Analizy HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

4. **P-4.Ślusarczyk, S.**, Cieślak, A., Yanza, Y.R., Szumacher-Strabel, M., Varadyova, Z., Stafiniak, M., Wojnicz, D. & Matkowski, A. 2021, "Phytochemical profile and antioxidant activities of *Coleus amboinicus* Lour. Cultivated in Indonesia and Poland", *Molecules*, vol. 26, no. 10.

IF: 4.41

Pkt. MEiN: 100

Udział własny :Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie badań. Wykonanie ekstraktów, rozdziały chromatograficzne. Analizy sprawdzające potencjał oksydacyjny ekstraktów. Analizy HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Analiza wielowymiarowa danych. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

5. **P-5.Woźniak, D., Ślusarczyk, S.**, Domaradzki, K., Dryś, A. & Matkowski, A. 2018, "Comparison of Polyphenol Profile and Antimutagenic and Antioxidant Activities in Two Species Used as Source of *Solidaginis herba* – Goldenrod", *Chemistry and Biodiversity*, vol. 15, no. 4.

IF: 1.44

Pkt. MNiSW: 25

Udział własny : Współudział w opracowaniu koncepcji pracy i zaplanowaniu badań. Wykonanie ekstraktów, rozdziały chromatograficzne. HPLC-MS, interpretacja uzyskanych wyników. Analiza wielowymiarowa danych i interpretacja wyników. Napisanie pracy, opracowanie części graficznej, współudział w korekcie edytorskiej pracy.

II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).

Nie dotyczy

Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

Przed doktoratem

1. **B1** Woźniak D., Kuś P., **Ślusarczyk S.**, Matkowski A., Kłącze *Belamcanda chinensis* jako źródło biologicznie aktywnej mangiferiny (Mangiferin - the biologically active xanthone from *Belamcanda chinensis* rhizomes). *Substancje pochodzenia roślinnego oraz ich zastosowanie w terapii naturalnej i kosmetyce* Wrocław (2008), Wyższa Szkoła Fizjoterapii,

Po doktoracie

1. **B2** Woźniak D., Nawrot-Hadzik I., Kozłowska W., **Ślusarczyk S.**, Matkowski A. (2021) Caffeoylquinic Acids. In: Xiao J., Sarker S.D., Asakawa Y. (eds) *Handbook of Dietary Phytochemicals*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4148-3_23

Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.

Nie dotyczy

Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).

Przed doktoratem

- 01** Ślusarczyk S., Hajnos M., Skalicka-Woźniak K., Matkowski A. Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz, 2009, *Food Chemistry*, 113, 1, 10.1016/j.foodchem.2008.07.037
- 02** Ślusarczyk S., Zimmermann S., Kaiser M., Matkowski A., Hamburger M., Adams M., Antiplasmodial and antitrypanosomal activity of tanshinone-type diterpenoids from *Salvia miltiorrhiza*, *Planta Medica*, 2011, 77, 14, 1594-1596
- 03** Fronza M., Murillo R., Ślusarczyk S., Adams M., Hamburger M., Heinzmann B., Laufer S., Merfort I. In vitro cytotoxic activity of abietane diterpenes from *Peltodon longipes* as well as *Salvia miltiorrhiza* and *Salvia sahendica*, 2011, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 19, 16, 10.1016/j.bmc.2011.06.067
- OB1** Matkowski A., Świąder K., Ślusarczyk S., Jezierska-Domaradzka A., Oszmiański J., Free radical scavenging activity of extracts obtained from cultivated plants of *Potentilla alba* L. and *Waldsteinia geoides* L. *Herba Pol.*, 2006, 52, 4, 91-97

Po doktoracie

- 04** Kobusiak-Prokopowicz M., Marciniak A., Ślusarczyk S., Ściborski K., Stachurska A., Mysiak A., Matkowski A. A suicide attempt by intoxication with *Taxus baccata* leaves and ultra-fast liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry, analysis of patient serum and different plant samples: Case report, 2016, *BMC Pharmacology and Toxicology*, 17, 1, 41, 10.1186/s40360-016-0078-5
- 05** Miroliaei M., Aminjafari A., Ślusarczyk S., Nawrot-Hadzik I., Rahimmalek M., Matkowski A. Inhibition of glycation-induced cytotoxicity, protein glycation, and activity of proteolytic enzymes by extract from *Perovskia atriplicifolia* Roots, 2017, *Pharmacognosy Magazine*, 13, 51, 10.4103/pm.pm_559_16
- 06** Senol F.S., Ślusarczyk S., Matkowski A., Pérez-Garrido A., Girón-Rodríguez F., Cerón-Carrasco J.P., den-Haan H., Peña-García J., Pérez-Sánchez H., Domaradzki K., Orhan I.E. Selective in vitro and in silico butyrylcholinesterase inhibitory activity of diterpenes and rosmarinic acid isolated from *Perovskia atriplicifolia* Benth. and *Salvia glutinosa* L., 2017, *Phytochemistry*, 133, 10.1016/j.phytochem.2016.10.012
- 07** Yanza Y.R., Szumacher-Strabel M., Bryszak M., Gao M., Kolodziejski P., Stochmal A., Ślusarczyk S., Patra A.K., Cieslak A. *Coleus amboinicus* (Lour.) leaves as a modulator of ruminal methanogenesis and biohydrogenation in vitro. 2018, *Journal of Animal Science*, 96, 11, 10.1093/jas/
- 08** Váradyová Z., Mravčáková D., Babják M., Bryszak M., Grešáková L., Čobanová K., Kišidayová S., Plachá I., Königová A., Cieslak A., Ślusarczyk S., Pecio L., Kowalczyk M.,

Várady M. Effects of herbal nutraceuticals and/or zinc against *Haemonchus contortus* in lambs experimentally infected, 2018, *BMC Veterinary Research*, 14, 1, 78, 10.1186/s12917-018-1405-4

- 09** Rodrigues M.J., Ślusarczyk S., Pecio Ł., Matkowski A., Salmas R.E., Durdagi S., Pereira C., Varela J., Barreira L., Custódio L. In vitro and in silico approaches to appraise *Polygonum maritimum* L. as a source of innovative products with anti-ageing potential, 2018, *Industrial Crops and Products*, 111, 10.1016/j.indcrop.2017.10.046
- 010** Bielecka M., Zielińska S., Pencakowski B., Stafiniak M., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A. Age-related variation of polyphenol content and expression of phenylpropanoid biosynthetic genes in *Agastache rugose*, 2019, *Industrial Crops and Products*, 141, 111743, 10.1016/j.indcrop.2019.111743
- 011** Mravčáková D., Váradyová Z., Kopčáková A., Čobanová K., Grešáková L., Kišidayová S., Babják M., Dolinská M.U., Dvorožňáková E., Königová A., Vadlejch J., Cieslak A., Ślusarczyk S., Várady M. Natural chemotherapeutic alternatives for controlling of haemonchosis in sheep, 2019, *BMC Veterinary Research*, 15, 1, 302, 10.1186/s12917-019-2050-2
- 012** Rodrigues M.J., Monteiro I., Placines C., Castañeda-Loaiza V., Ślusarczyk S., Matkowski A., Pereira C., Pousão P., Custódio L. The irrigation salinity and harvesting affect the growth, chemical profile and biological activities of *Polygonum maritimum* L., 2019, *Industrial Crops and Products*, 139, 111510, 10.1016/j.indcrop.2019.111510
- 013** Rodrigues M.J., Matkowski A., Ślusarczyk S., Magné C., Poleze T., Pereira C., Custódio L. Sea knotgrass (*Polygonum maritimum* L.) as a potential source of innovative industrial products for skincare applications, 2019, *Industrial Crops and Products*, 128, 10.1016/j.indcrop.2018.11.038
- 014** Nawrot-Hadzik I., Ślusarczyk S., Granica S., Hadzik J., Matkowski A. Phytochemical diversity in rhizomes of three Reynoutria species and their antioxidant activity correlations elucidated by LC-ESI-MS/MS analysis, 2019, *Molecules*, 24, 6, 1136, 10.3390/molecules24061136
- 015** Piwowar A., Rembiałkowska N., Rorbach-Dolata A., Garbiec A., Ślusarczyk S., Dobosz A., Długosz A., Marchewka Z., Matkowski A., Saczko J. Anemarrhenae asphodeloides rhizoma extract enriched in mangiferin protects PC12 cells against a neurotoxic agent-3-nitropropionic acid, 2020, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 7, 2510, 10.3390/ijms21072510
- 016** Mravčáková D., Komáromyová M., Babják M., Dolinská M.U., Königová A., Petrič D., Čobanová K., Ślusarczyk S., Cieslak A., Várady M., Váradyová Z. Anthelmintic activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) and mallow (*malva sylvestris* L.) against *Haemonchus contortus* in sheep, 2020, *Animals*, 10, 2, 2019, 10.3390/ani10020219
- 017** Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Čobanová K., Kišidayová S., Cieslak A., Ślusarczyk S., Váradyová Z. Effect of dry medicinal plants (wormwood, chamomile, fumitory and mallow) on in vitro ruminal antioxidant capacity and fermentation patterns of sheep, 2020, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104, 5, 10.1111/jpn.13349

- 018** Huang H., Szumacher-Strabel M., Patra A.K., Ślusarczyk S., Lechniak D., Vazirigohar M., Varadyova Z., Kozłowska M., Cieślak A. Chemical and phytochemical composition, in vitro ruminal fermentation, methane production, and nutrient degradability of fresh and ensiled Paulownia hybrid leaves, 2021, *Animal Feed Science and Technology*, 279 115038, 10.1016/j.anifeedsci.2021.115038
- 019** Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Kišidayová S., Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Huang H., Kolodziejski P., Lukomska A., Slusarczyk S., Čobanová K., Váradyová Z. Impact of Zinc and/or Herbal Mixture on Ruminal Fermentation, Microbiota, and Histopathology in Lambs, 2021, *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 630971 10.3389/fvets.2021.630971
- 020** Bielecka M., Pencakowski B., Stafiniak M., Jakubowski K., Rahimmalek M., Gharibi S., Matkowski A., Ślusarczyk S. Metabolomics and DNA-Based Authentication of Two Traditional Asian Medicinal and Aromatic Species of *Salvia* subg. *Perovskia*, 2021, *Cells*, 10, 1, 10.3390/cells10010112
- 021** Stafiniak M., Ślusarczyk S., Pencakowski B., Matkowski A., Rahimmalek M., Bielecka M. Seasonal variations of rosmarinic acid and its glucoside and expression of genes related to their biosynthesis in two medicinal and aromatic species of *Salvia* subg. *Perovskia*, 2021, *Biology*, 10, 6, 458 10.3390/biology10060458
- 022** Várady M., Ślusarczyk S., Boržikova J., Hanková K., Vieriková M., Marcinčák S., Popelka P. Heavy-metal contents and the impact of roasting on polyphenols, caffeine, and acrylamide in specialty coffee beans, 2021, *Foods*, 10, 6, 1310 10.3390/foods10061310
- 023** Rukavina I., Rodrigues M.J., Pereira C.G., Mansinhos I., Romano A., Ślusarczyk S., Matkowski A., and Custódio L., Greener Is Better: First Approach for the Use of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) to Extract Antioxidants from the Medicinal Halophyte *Polygonum maritimum* L. 2021, *Molecules*, 26, 6, 136. <https://doi.org/10.3390/molecules26206136>
- 024** Puchalska J., Szumacher-Strabel M., Kumar C.P., Ślusarczyk S., Gao M., Petrič D., Nabzdyk M., and Cieślak A., The effect of different concentrations of total polyphenols from *Paulownia* hybrid leaves on ruminal fermentation, methane production and microorganisms. 2021, *Animals*, 11, 2843. <https://doi.org/10.3390/ani111028>
- 025** Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Kišidayová S., Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Huang H., Kolodziejski P., Lukomska A., Ślusarczyk S., Čobanová K., and Váradyová Z., Impact of Zinc and/or Herbal Mixture on Ruminal Fermentation, Microbiota, and Histopathology in Lambs. 2021, *Front. Vet. Sci.* 8:630971. doi: 10.3389/fvets.2021.630971

Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

Udział w międzynarodowych lub krajowych konferencjach naukowych

Przed doktoratem

- K1.** Ślusarczyk S., Matkowski A., Świąder K., Gleńsk M., Analysis Of The Antioxidant Phenolic Compounds In *Lycopus Lucidus* L Extracts Using Tlc And Rp-Hplc 5th International Symposium On Chromatography Of Natural Products (Iscnp) "The Application Of Chromatographic Methods In Phytochemical & Biomedical Analysis". Lublin (Poland), June 19-22, 2006
- K2.** Świąder K., Ślusarczyk S., Matkowski A., Oszmiański J., Antyoksydacyjne działanie związków polifenolowych uzyskanych z liści dwóch gatunków z rodziny rosaceae: pięciornika białego (*Potentilla alba* L.) i pragnii kuklikowatej (*Waldsteinia geoides* L.). Konferencja "Współczesna fitoterapia - działania niepożądane i interakcje". Poznań, 7 listopada 2006.
- K3.** Skalicka-Woźniak K., Głowniak K., Ślusarczyk S., Matkowski A., Szypowski J., Phenolic Acids In Fruits Of *Peucedanum Alsaticum* - Antioxidant Activity. *Planta Med.* 2008 Vol.74 No.9 S.135-136 Poz.Pb4, Bibliogr. 9 Poz, 7th Joint Meeting Of Aferp, Asp, Ga, Pse & Sif. Athens, Greece, August 3rd - 8th, 2008.
- K4.** Kuś P., Woźniak D., Ślusarczyk S., Zieliński P., Matkowski A., Kłącze *Belamcanda Chinensis* Jako Źródło Biologicznie Aktywnej Mangiferyny. W: Międzyuczelniana Naukowa Konferencja Studencka "Związki Pochodzenia Roślinnego Oraz Ich Zastosowanie W Terapiach Naturalnych". Wrocław, 12 Stycznia 2008
- K5.** Woźniak D., Oleszek W., Janda B., Kapusta I., Kuś P., Ślusarczyk S., Matkowski A., Isolation And Purification Of Mangiferin From *Belamcanda Chinensis* - An Alternative Source Of An Antioxidant Xanthone C-Glucoside.. W: 6th International Symposium On Chromatography Of Natural Products (Iscnp) "The Application Of Chromatographic Methods In Phytochemical & Biomedical Analysis". Lublin, 15-18 June 2008.
- K6.** Ślusarczyk S., Skalicka-Woźniak K., Pawłowska K., Matkowski A., Phenolic Acids And Flavonoids In Three *Lycopus* Species And Their Antioxidants Potency W: Young Scientists Meeting "Future Trends In Phytochemistry In The Global Era Of Agri-Food And Health". Murcia (Spain), May 12th-14th, 2009.
- K7.** Ślusarczyk S., Woźniak D., Matkowski A., Plitzko I., Hamburger M., Isolation And Purification Of Two Isoflavones (Tectoridin And Iridin) From *Belamcanda Chinensis*, Iridaceae, Swiss Pharma Science Day 2009. Bern, 2. September 2009
- K8.** Jamiołkowska W., Ślusarczyk S., Matkowski A. Gc-MS Analysis Of Commercial Freshly Hydrodistilled Juniper And Scots Pine Essential Oils. W: 7th International Symposium On Chromatography Of Natural Products Joined With 6th International Symposium Of The International Society For The Development Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), June 14-17, 2010
- K9.** Ślusarczyk S., Zieliński P., Świerczyński M., Hamburger M., Matkowski A., Antioxidant Tannins From Docks - Extraction And Chromatographic Analysis Of *Hydrolapathi Radix*.. W: 7th International Symposium On Chromatography Of Natural Products Joined With 6th International Symposium Of The International Society For The Development Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), June 14-17, 2010
- K10.** Ślusarczyk S., Kocyba J., Paturi B., Woźniak D., Matkowski A. Bioactivity Of Tanshinones And Rosmarinic Acid From Roots Of *Perovskia Atriplicifolia*. Conference

Of Bioactive Plant Compounds - Structural And Applicative Aspects. Puławy, Poland, September 12nd-14th, 2011.

- K11.** Nawrot I., Zmora P., Szumacher-Strabel M., Matkowski, A., Ślusarczyk S., Pers-Kamczyc E., Cieślak A., Would Sanguisorbae Radix Protect The World From Greenhouse Effect? The Effect Of Gallotannin-Enriched Fraction On In Vitro Methanogenesis In Rumen Fluid. 8th International Symposium On Chromatography Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), May 17-20, 2012
- K12.** Nawrot I., Zmora P., Szumacher-Strabel M., Nawrot A., Ślusarczyk S., Pers-Kamczyc E., Cieślak A., Matkowski A., The Effect Of Gallotannin-Enriched Fraction From Sanguisorba Officinalis On In Vitro Methanogenesis In Rumen Fluid.. 10th International Symposium On Pharmaceutical Sciences ,Ankara, Turkey, June 26-29, 2012.
- K13.** Ślusarczyk S., Adams M., Matkowski A., Zimmermann S., Kaiser M., Brun R., Kulbacz A., Hamburger M., Tanshinones From Salvia Glutinosa And Their Antiprotozoal Activity 8th International Symposium On Chromatography Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), May 17-20, 2012.
- K14.** Ślusarczyk S., Woźniak D., Adams M., Hamburger M., Zimmermann S., Kocyba J., Miroliaei M, Matkowski A., Perovskia Ornamental Variety As A Source Of Bioactive Tanshinones And Rosmarinic Acid. 8th International Symposium On Chromatography Of Natural Products "The Application Of Analytical Methods For The Development Of Natural Products". Lublin (Poland), May 17-20, 2012.
- K15.** Ślusarczyk S., Woźniak D, Adams M., Hamburger M., Zimmermann S., Kocyba J., Miroliaei M., Matkowski A., Bioactivity Of Diterpenoid Quinones And Rosmarine Acid From Cultivated Perovskia Atriplicifolia.. 10th International Symposium On Pharmaceutical Sciences (Isops-10). Ankara, Turkey, June 26-29, 2012.
- K16.** Nawrot I., Jzierska-Domaradzka A., Nawrot A., Ślusarczyk S., Matkowski A., Allelopathic And Antioxidant Properties Of Tannin Fractions From Two Tcm Herbs - Polygoni Cuspidati Rhizoma And Sanguisorbae Radix. 2nd International Conference And Workshop "Plant - The Source Of Research Material". Lublin, 18-20.10.2012.

Po doktoracie

- K17.** Ślusarczyk S., Adams M., Hamburger M., Zimmermann S., Matkowski A., Red Tanshinones - Promising Constituents Against Trypanosoma Protozoan. W: International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 3-6 November 2013
- K18.** Ślusarczyk S, Tomaszewska J., Kichimasova Y.S., Matkowski A., Red And Healthy-On Phytochemistry And Bioactivity Of Tanshinones, 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya (Turkey), November 2-5, 2013.

- K19.** Ślusarczyk S., Zieliński P., Świerczyński M., Nawrot I., Matkowski A., Woźniak D., Docks As Source Of Antioxidants-Polyphenol Content And Antioxidant Activity Of Roots From Three Wild Rumex Sp. *Emir. J. Food Agric.* 2013 Vol.25 Suppl. S.72 Poz.Pp-144, 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya (Turkey), November 2-5, 2013.
- K20.** Ślusarczyk S., Adams M, Hamburger M., Zimmermann S., Kacprzak E., Kulbacz A., Tomaszewska J, Matkowski A., Czerwone Dla Świdrowców - Tanszynony z rodzajów *Salvia* i *Perovskia* oraz ich aktywność przeciwprzewodniakowa. W: III Krajowa Konferencja "Naturalne Substancje Roślinne Aspekty Strukturalne I Aplikacyjne". Puławy, 4-6 Września 2013
- K21.** Nawrot I., Sokołowski P., Ślusarczyk S., Topolski J., Kucharski M, [Nna] Jezierska-Domaradzka A., Domaradzki K., Matkowski A., Antrachinony w inwazyjnych gatunkach rodzaju *Fallopia*, Krajowa Konferencja "Naturalne Substancje Roślinne Aspekty Strukturalne I Aplikacyjne". Puławy, 4-6 Września 2013
- K22.** Nawrot I., Sokołowski P., Topolski J., Ślusarczyk S., Kucharski M., Hadzik J., Matkowski A., Anthraquinones In The Invasive Species Of *Fallopia*. 3rd International Conference And Workshop "Plant - The Source Of Research Material". Lublin, Poland, 16th-18th October 2013
- K23.** Nawrot I., Sokołowski P., Ślusarczyk S, Topolski J., Kucharski M., Jezierska-Domaradzka A, Domaradzki K., Matkowski A., Woźniak D., Anthraquinones In The Invasive Giant Knotweeds (*Fallopia* Sp.-*Polygonaceae*) From Poland. 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya (Turkey), November 2-5, 2013.
- K24.** Ślusarczyk S., Libik M., Michalec Ż., Czapecka E., Skarbek P., Topolski J., Domaradzki K., Matkowski A., Analysis Of Steviol Glycosides And Antioxidant Polyphenols In Micropropagated *Stevia Rebaudiana* Using Uplc/Ms/Ms Young Scientists Meeting "Trends In Natural Products Research". Olomouc, Czech Republic, June 23-25, 2014
- K25.** Matkowski A., Jezierska-Domaradzka A., Nawrot I., Domaradzki K., Gołąb K., Dołowacka A., Gburek J., Ślusarczyk S., Woźniak D., Noxious But Useful - Invasive Plants As Source Of Bioactive Compounds. The Case Of *Fallopia* And *Solidago*. W: 4th International Conference And Workshop "Plant - The Source Of Research Material". Lublin, 20-23.09.2015.
- K26.** Matkowski A., Aminjafari A., Miroliaei M., Rahimalek M., Ślusarczyk S., Phytochemical composition and bioactivity of extracts from two *Perovskia* species. 2nd International Conference on Natural Products Utilization "From plants to pharmacy shelf". Plovdiv, Bulgaria, 14-17 October 2015, s.223 poz.PP133.
- K27.** Ślusarczyk S., Pecio Ł., Stochmal A., Matkowski A., Three New Natural Compounds Isolated From *Perovskia atriplicifolia* Roots. W: Trends In Natural Products Research : A Young Scientists Meeting Of Pse And Iung-Pib. Puławy, Poland, 30th May - 2nd June 2016.
- K28.** Ślusarczyk S., Pawlikowska A., Jaśpińska J., Stochmal A., Domaradzki K., Matkowski A., Silicon Modulates Salt-Stress Response In Medicinal Plants W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants In Pharmacy And Nutrition". Wroclaw, 15-17 September 2016.

- K29.** Ślusarczyk S., Practical Aspect Of Using Metabolomic Approach In Medicinal Plants Analysis. W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants In Pharmacy And Nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016.
- K30.** Ślusarczyk S., Pecio Ł., Stochmal A., Jaspińska J., Rahimmalek M., Matkowski A., Nmr And Lc-Tof-Ms Metabolomic Analysis Reveals Inter- And Intraspecific Variation And Osmotic Stress Response Of Chemical Profile In *Perovskia* Species. 9th Joint Meeting Of Aferp, Asp, Ga, Jsp, Pse & Sif. Copenhagen, Denmark, July 24-27, 2016. Abstracts. Toż: 9th Joint Natural Products Conference 2016.
- K31.** Matkowski A., Zielińska S., Libik-Konieczny M., Konieczny R., Kozłowska W., Ślusarczyk S., How Stressed Plants Can Help Stressed Humans? On The Role Of Oxidative Stress Response In Biosynthesis Of Bioactive Metabolites. The 12th National Symposium With International Participation "Medicina Plants - Present And Perspectives". Piatra Neamt, Romania, September 6-9, 2016
- K32.** Nawrot-Hadzik I., Szandruk M., Kazana A., Ślusarczyk S., Matkowski A., Antioxidant Properties Of The *Sanguisorbae* Herba And *Sanguisorbae* Radix Extracts.. W: The 12th National Symposium With International Participation "Medicina Plants - Present And Perspectives". Piatra Neamt, Romania, September 6-9, 2016
- K33.** Ślusarczyk S., Jaśpińska J., Surma M., Matkowski A., Stochmal A., Domaradzki K., Aeroponic Cultivation Of Asian Medicinal Plants. 2nd International Young Scientists Symposium "Plants In Pharmacy And Nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016.
- K34.** Woźniak D., Ślusarczyk S., Nowak M., Szumera M., Matkowski A., Goldenrod - comparison of *Solidago canadensis* L. and *Solidago gigantea* Ait. W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts Wrocław 2016
- K35.** Kobusiak-Prokopowicz M., Marciniak A., Ślusarczyk S., Ściborski K., Stachurska R., Matkowski A., Mysiak A., Intensive cardiac care in a patient intoxicated with *Taxus baccata*. *Resuscitation* 2016 Vol.106 suppl.1 s.e25 poz.AP007, Resuscitation 2016 - ERC Congress on Education. Reykjavik (Iceland), 24-25 September 2016.
- K36.** Ślusarczyk S., Sezer Senol F., Matkowski A., Perez Garrido A., Giron Rodriguezd F., Ceron-Carrasco J.P., Den Haan H., Pena Garcia J., Perez Sanchez H., Erdogan I.Orhan, Kowalczyk M., Stochmal A.. Selective In Vitro And In Silico Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity Of Diterpenes And Polyphenols From Traditional Asian Medicinal Plants, 65th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research. Basel, Switzerland, 3-7 September 2017
- K37.** Libik M., Woźniak D., Capecka E., Michalec Ż., Łągiewka K., Mura E., Ślusarczyk S., Matkowski A., Influence Of Cultivation Conditions And Stress Treatment On Polyphenol Profile And Antimutagenic Activity Od *Stevia Rebaudiana*. 3rd International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 18-21 October 2017
- K38.** Ślusarczyk S., Jaspińska J, Pecio Ł., Stochmal A, Gille E., Matkowski A., Diversity Of Diterpenoids And Polyphenols In *Salvia Glutinosa* L. Analyzed Using Targeted Metabolomics Based On Lc-Qtof-Ms And 1h-Nmr, 65th International Congress And

Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research. Basel, Switzerland, 3-7 September 2017.

- K39.** Woźniak D., Ślusarczyk S., Domaradzki K., Matkowski A., Comparison Of Polyphenol Profile And Antimutagenic And Antioxidant Activities In Two Species Used As Source Of Solidaginis Herba - Goldenrod Herb. 3rd International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 18-21 October 2017
- K40.** Woźniak D., Bęben M., Ślusarczyk S., Matkowski A., Antioxidant And Antimutagenic Activity Of Main Isoflavones, Xanthones, And Stilbenes From *Belamcandae Chinensis* Rhizoma.. 3rd International Conference On Natural Products Utilization "From Plants To Pharmacy Shelf". Bansko, Bulgaria, 18-21 October 2017
- K41.** Stochmal A., Cieślak A., Ślusarczyk S., Kowalczyk M., Pecio Ł., Yanza Y.R., Min G., Bryszak M., Rodriguez V. R., Szumacher-Strabel M. Potential of bioactive substances of *Perovskia atriplicifolia* Benth. roots to modulate ruminal fiber degradability and methanogenesis. 2nd International Symposium on Phytochemicals in Food and Medicine. Fuzhou, China, April 7-10, 2017. Abstracts, s.213-214 poz.P86, bibliogr. 2 poz.
- K42.** Cieślak A., Ślusarczyk S., Pecio Ł., Kowalczyk M., Szumacher-Strabel M., Yanza Y.R., Min G., Bryszak M., Stochmal A.. Basic rumen parameters and methane production after supplementing diet with roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi. 2nd International Symposium on Phytochemicals in Food and Medicine. Fuzhou, China, April 7-10, 2017. Abstracts, s.183-184 poz.P58, bibliogr. 1 poz.
- K43.** Grzelka K., Ślusarczyk S., Surma M., Matkowski A., Izograndifoliol - Nor-Diterpenoid Izolowany z gatunku *Perovskia atriplicifolia* Benth. O Aktywności Hamującej Butyrylocholinoesterazę Iv Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Współczesne Zastosowanie Metod Analitycznych W Farmacji I Medycynie". Wrocław, 12 Kwietnia 2019
- K44.** Kapelańczyk K., Pencakowski B., Niezgoda S., Kozłowska W., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A., Application Of Matrix Solid-Phase Dispersion For Hplc Analysis Of Polyphenol Profile In 50-Years Old Herbarium Specimens Of *Polygonum Aviculare*. 67th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research (Ga). Innsbruck, Austria, September 1-5, 2019
- K45.** Stafiniak M., Kozłowska W., Pencakowski B., Buluk M., Ślusarczyk S., Matkowski A., Rahimmalek M., Bielecka M., Variation Of Phenolic Compounds And Expression Of Phenylpropanoid Biosynthetic Genes In Two Medicinal And Aromatic Species Of *Salvia* Subg. *Perovskia*, 67th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research (Ga). Innsbruck, Austria, September 1-5, 2019
- K46.** Bielecka M., Zielińska S., Pencakowski B., Stafiniak M., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A., Age-Related Variation In Polyphenol Content and Expression Of Phenylpropanoid Biosynthetic Genes In A Medicinal And Aromatic Perennial *Agastache rugosa* 67th International Congress And Annual Meeting Of The Society For Medicinal Plant And Natural Product Research (Ga). Innsbruck, Austria, September 1-5, 2019.

Prezentacja ustna na konferencjach krajowym i międzynarodowych

1. 2013 „Red tanshinones of the *Salvia* and *Perovskia* genera and their antiprotozoal activity. "3rd National Conference" *Natural plant substances - structural and application aspects* " Puławy 4-6 września , (I nagroda za najlepszą prezentację)
2. 2015 „Metabolomic approach with the analysis of a selected TCM medicinal plant "during *8th International Metabolomics Workshop*, Natural Products Laboratory Institute of Biology Leiden University, Holand 13-17 kwietnia
3. „The practical aspect of using metabolomic approach in the analysis of medicinal plants ", II International Symposium for Young Scientists" *Plants in pharmacy and nutrition* ". medicinal . Wrocław, 15-17 września
4. „Practical aspects of the use of metabolomics in the analysis of medicinal plants focused on root samples of aeroponically grown plants. *XV Congress of the Italian Society of Phytochemistry and the 1st International Congress of Edible, Medicinal and Aromatic Plants*, , Pisa , Italy 28-30 czerwca

Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

Byłem w Komitecie organizacyjnym 2 konferencji:

1. 6 - 8 września 2017 Czwarta edycję cyklicznej Krajowej Konferencji „Naturalne substancje roślinne – aspekty strukturalne i aplikacyjne”. Puławy
2. Trends In Natural Products Research : A Young Scientists Meeting of PSE (Phytochemical Society of Europe) And Iung-Pib. Puławy, Poland, 30th May - 2nd June 2016.

Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

Projekty badawcze w toku realizacji

1. kierownik projektu SONATA nr 2020/39/D/NZ9/01402 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, „Elektroporacja pulsacyjna jako innowacyjna metoda w procesie tzw. dojenia korzeni, wykorzystana w adaptacji upraw roślin leczniczych w warunkach bezglebowych” 2021-2024

Projekty badawcze zrealizowane

1. główny wykonawca – doktorant w grantie promotorskim nr 2012/07/N/NZ7/02420 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: „Nowe związki biologicznie czynne w roślinach leczniczych z rodzajów Artemisia i Salvia” 2010-2013
2. wykonawca projektu - **OPUS** nr 2012/05/B/NZ9/1035 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki „Wpływ stresu oksydacyjnego na syntezę glikozydów stewiolowych w roślinach Stevia rebaudiana Bertoni.” 2013-2016
3. wykonawca projektu 2006-2008; ST-264/AM/2006; „Antyoksydacyjne właściwości polifenoli izolowanych z wybranych roślin tradycyjnej medycyny dalekowschodniej - Codonopsis sp, Rehmannia sp, Salvia sp.” - projekt badań statutowych Akademii Medycznej we Wrocławiu
4. kierownik projektu- 2007-2009; 1655/2007/AM; „ Analiza fitochemiczna składników fenolowych z gatunku *Lycopus lucidus* Turcz. Ex Bentham oraz ocena właściwości antyoksydacyjnych uzyskanych ekstraktów” projekt badań statutowych Akademii Medycznej we Wrocławiu
5. wykonawca projektu- 2009-2011; ST-411/AM/2009; „Badania właściwości biologicznych wybranych surowców roślinnych bogatych w tanoidy oraz roślin dwupiennych - projekt badań statutowych Akademii Medycznej we Wrocławiu
6. wykonawca projektu- 2009-2011; Badania własne uczelni; „Izolacja i badanie właściwości antymutagennych i antyoksydacyjnych ksantonów z kłaczy *Belamcanda chinensis*”.-

Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

Jestem członkiem w towarzystwach naukowych:

1. Society for Medicinal Plant and Natural Product Research Gesellschaft für Arzneipflanzen- und Naturstoff-Forschung e.V. (GA)
2. Phytochemical Society of Europe (PSE)
3. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne (PTFARM)

Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

Staż krajowe naukowe:

1. **2014-2017** (Fuga- NCN) nr 2014/12/S/NZ9/00715 Krajowy Staż Naukowy po uzyskaniu stopnia dr. „ Analiza metabolomiczna wybranych roślin leczniczych w oparciu o analityczne techniki spektroskopowe NMR oraz spektralne MS. Wielowymiarowa analiza zmienności, wtórnych metabolitów roślinnych pod wpływem czynników biotycznych i abiotycznych”, realizowany w w laboratorium Biochemii i Jakości Plonów w Instytucie Upraw Nawożenia i Gleboznawstw w Puławach.
2. **2007**-Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Farmakognozji pod kierownictwem Prof. K. Głowniaka, Staż Ministerstwa Zdrowia (1 miesiąc)
3. **2008**-Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, K. I Z. Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin pod kierownictwem Prof. J. Budzianowskiego. Staż Ministerstwa Zdrowia (1 miesiąc)

Stáže zagraniczne naukowe:

1. **2009-(6 miesięcy)** Laboratorium Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Bazylei, Szwajcaria pod kierownictwem Prof. dr Matthiasa Hamburgera, stypendium naukowe programu EU "Human Capital"
2. **2012**-(miesiąc) Laboratorium Biologii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Bazylei, Szwajcaria pod kierownictwem Prof. dr Matthiasa Hamburgera , w tym czasie zajmowałem się analizą HPLC-MS oraz identyfikacją wyizolowanych związków z *S.milthiorrisa* i *P.atriplicifolia*.

Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Przeprowadziłem recenzje ponad 40 oryginalnych prac eksperymentalnych i prac przeglądowych dla czasopism międzynarodowych z IF, w tym dla *Molecules*, *Metabolites*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Cells*, *Foods*, *Chemistry&Biodiversity*, *Applied Sciences*, *Frontiers*, *Food Chemistry*, *Industrial Crops&Products*, *Antioxidants*, *Phytochemical letters*, *Nutrients*, *Pharmaceuticals*, *Phytochemical analysis*, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, *Veterinari Medicina*,

Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

W ramach programu Erasmus plus zostałem zakwalifikowany do wyjazdu szkoleniowego , który odbędzie się w 2022 roku w czerwcu w Szwecji na Uniwersytecie LUND (przedwstępna umowa partnerska jest podpisana) .

Pełniłem funkcję opiekuna prac doświadczalnych, wykonywanych przez studentów z Indii, Niemiec, Turcji, Iranu i Ukrainy, odbywających staże w ramach praktyk IPSF i programu Erasmus.

Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

Nie dotyczy

Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

Nie dotyczy

III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.

Od 2020 roku jestem w składzie Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu medycznego we Wrocławiu, w ramach której jestem członkiem dwóch komisji: ds. Finansowania Badań Naukowych i Prac Rozwojowych , oraz komisji do przeprowadzenia postępowań konkursowych na stanowiska nauczycieli akademickich w grupie badawczej.

W 2010 r. brałem czynny udział w organizowaniu i prowadzeniu warsztatów dla dzieci „Sól pieprz, oregano po co aptekarzowi przyprawy” w ramach Uniwersytetu Dzieci,

W 2014 r. w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki prowadziłem wykłady i warsztaty dla uczestników , organizowanych w muzeum Farmacji we Wrocławiu.

W 2018 prowadziłem swój autorski program dla dzieci ze szkoły w Łące Prudnickiej ze znajomości i zagrożeń stosowania roślin w połączeniu z warsztatami z ziołolecznictwa aptecznego.

<https://www.facebook.com/media/set?vanity=Tygodnik.Prudnicki&set=a.2237458952948728>

W październiku 2021 prowadziłem warsztaty laboratoryjne pt”Chemotaksonomia roślin leczniczych” dla kasy patronackiej z Liceum Ogólnokształcącego nr VII im. K.K.Baczyńskiego we Wrocławiu.

Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

Nie dotyczy

IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

1. Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).

		Liczba punktów		Impact factor (liczba prac)	
		całość	bez cyklu	całość	bez cyklu
A. Publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora		97,0	97,0	8,22 (3)	8,22 (3)
B. Publikacje po uzyskaniu stopnia doktora	do 2018 roku:	245,0	200,00	90,707 (27)	76,581 (22)
	od 2019 roku:	2400,0	2090,0		
RAZEM:		2742,0	2387,0	98,927 (30)	84,801 (25)

2. Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.

LICZBA CYTOWAŃ:

ogółem: 349

bez autocytowań: 317

(wg Web of Science Core Collection z dnia 09.11.2021 r.)

3. Informacja o posiadanym indeksie Hirscha.

h-index = 9

(wg Web of Science Core Collection z dnia 09.11.2021 r.)

4. Informacja o liczbie punktów MNiSW.

Przed doktoratem: 97

(wg Web of Science Core Collection z dnia 09.11.2021 r.)

Po doktoracie: 2645

(wg Web of Science Core Collection z dnia 09.11.2021 r.)



Signed by /
Podpisano przez:

Sylwester
Ślusarczyk

Date / Data: 2021-
11-19 12:42

.....
(podpis wnioskodawcy)