

Michał P. Maliński – „Kultury *in vitro* *Lychnis flos-cuculi* L. (Caryophyllaceae) jako potencjalne źródło metabolitów wtórnych o aktywności biologicznej”

Przedmiotem badań jest *Lychnis flos-cuculi* L. (firletka poszarpana), krajowy gatunek występujący w Eurazji, znany z tradycyjnego lecznictwa. Doniesienia etnofarmakologiczne sugerują potencjalne zastosowanie tego taksonu jako źródła związków o cennej aktywności biologicznej. Wśród metabolitów wtórnych wymienić można saponiny triterpenowe, ekdysteroidy, flawonoidy i kwasy fenolowe. Przegląd piśmiennictwa i baz danych pozwolił skompletować dotychczasowe doniesienia o składzie chemicznym i aktywności biologicznej tej rośliny na tle blisko spokrewnionych taksonów. Gatunek wprowadzono do kultur *in vitro* i opracowano wydajny protokół mikrorozmnażania z wierzchołków pędów metodą rozwoju pąków bocznych. W wyniku klonalnego mnożenia *in vitro* otrzymano dużą liczbę jednorodnych genetycznie mikrosadzonek, z których założono uprawę gruntową (rośliny *ex vitro*). Metodami biotechnologicznymi otrzymano kolejne kultury w różnych systemach *in vitro*: kultury pędowe na podłożu stałym oraz kultury kalusa, a także kultury wytrząsane całych roślin w pożywce płynnej – w celu otrzymania biomasy korzeni przybyszowych. Otrzymane surowce poddano badaniom fitochemicznym. Oznaczono zawartość dominujących ekdysteroidów (20-hydroksyekdysonu i polipodyny B) w surowcach pochodzących z kultur *in vitro* oraz ze stanowiska naturalnego, wykazując ich zwiększoną akumulację w korzeniach przybyszowych z kultur *in vitro* oraz dojrzałych roślinach uzyskanych z mikrorozmnażania. Najwyższe wyniki całkowitej zawartości związków fenolowych, flawonoidów i fenolokwasów oraz aktywności antyoksydacyjnej (FRAP) i przeciwrodnikowej (DPPH) uzyskano dla kwiatostanów i kwitnących pędów, zarówno roślin z natury jak i rozmnażanych *in vitro*. Z ziela *ex vitro* odznaczającego się szczególnie wysoką zawartością ekdysonów wyizolowano 20HE i polB. Wyodrębnione związki scharakteryzowano instrumentalnymi metodami spektralnymi (NMR, MS, UV-Vis, IR, HPLC-DAD) w celu potwierdzenia ich tożsamości i określenia czystości. Dla kwitnącego ziela i korzeni roślin rozmnażanych *in vitro* oraz kalusa – przeprowadzono skrining fitochemiczny i badania wybranych aktywności biologicznych. Metodą UHPLC-MS potwierdzono obecność głównych grup metabolitów wtórnych typowych dla gatunku, w tym saponin charakterystycznych dla *Caryophyllaceae*, częściowo określając ich budowę chemiczną. Wykazano działanie fungistatyczne wyciągów przeciwko kilku patogenom grzybowych, takich jak *Candida*, *Aspergillus* oraz trzy gatunki dermatofitów. Silną aktywność przeciwprzywrotniakową wobec trofozoitów patogennych szczepów *Acanthamoeba* sp. zaobserwowano dla frakcji 80%-metanolowych ekstraktów z korzenia

i kalusa oraz wyodrębnionych ekdysteroidów. Wysoka toksyczność ostra w teście Microtox®, opartym na modelu bakteryjnym, dla frakcji 80%-metanolowych z badanych surowców może wiązać się z obecnością licznych saponin i ich potencjalną aktywnością przeciwdrobnoustrojową. Rozprawę uzupełnia praca przeglądowa dotycząca produkcji ekdysteroidów w roślinnych kulturach *in vitro* przez taksony szczególnie bogate w te związki. Omówione techniki biotechnologiczne stosowane w celu zwiększenia biosyntezy ekdysteroidów wskazują nowe możliwości produkcji tych związków w biomase roślinnej. Badania własne i przegląd piśmiennictwa wskazują na roślinne kultury *in vitro* jako alternatywną, potencjalną metodę pozyskiwania ekdysteroidów dla potrzeb komercyjnych. Otrzymane kultury *in vitro* *L. flos-cuculi* to odnawialne, bogate źródło jednorodnej biomasy zawierającej związki o cennej aktywności biologicznej.

9.04.2021

Michał Malinowski