

Tytuł: „Kultury *in vitro* *Bacopa monnieri* (L. Pennell) źródłem pierwiastków i związków fizjologicznie aktywnych”

Autor: Maciej Łojewski

Promotor: dr hab. Bożena Muszyńska, prof. UJ

STRESZCZENIE

Bacopa monnieri (L. Pennell) (ang. Water hyssop), znana lokalnie w Indiach jako Brahmi lub Jalamimba jest jedną z najważniejszych roślin w systemie starożytnej medycyny indyjskiej Ayurveda. Roślina ta, ze względu na swoje interesujące właściwości biologiczne została wybrana, jako obiekt badań w cyklu tematycznych prac, stanowiących prezentowaną rozprawę doktorską. *B. monnieri* (synonimy: *Moniera cuneifolia* Michx; *Bramia monnieri* Pennell; *Gratiola monniera* Linn; *Herpetis monniera* (Linn.) H.B. & K.; *Lysimachia monniera* Linn) należy do rodziny *Scrophulariaceae* (Trędownikowate).

B. monnieri w Indiach jest wykorzystywana od ponad 5000 lat w leczeniu chorób takich jak: padaczka, bezsenność oraz jako surowiec o działaniu uspokajającym i przeciwłękowym. Według Bhavprakash Nighantu (1500 rok n.e.) zalecana jest do stosowania leczniczego, jako środek poprawiający pamięć i koncentrację. *B. monnieri* jest rośliną adaptogenną czyli taką, z której ekstrakty ułatwiają przystosowanie się organizmu człowieka do niekorzystnych warunków środowiskowych, oraz posiada normalizujący wpływ na proces adaptacji. Jest też gatunkiem stosowanym wspomagająco w leczeniu depresji.

Na podstawie piśmiennictwa naukowego stwierdzono, że związkami odpowiedzialnymi za działania opisanego surowca są bakozydy, wśród których dominują bakozydy A i B należące do grupy saponin triterpenoidowych.

Celem pracy było sprawdzenie, czy występujące substancje nieorganiczne i organiczne (inne niż bakozydy) w biomacie z kultur *in vitro* *B. monnieri*, mogą mieć wpływ na profil jej działania. Po raz pierwszy została oznaczona zawartość biopierwiastków (takich jak: Na, K, Mg, Fe, Cu, Zn i Ca) oraz wybranych związków organicznych (indolowych, fenolowych i nienasyconych kwasów tłuszczowych).

Ze względu na fakt, że *B. monnieri* jest gatunkiem ginącym w stanie naturalnym i z tego powodu jest objęta ochroną prawną, to kolejnym celem eksperymentu było zabezpieczenie jej wyczerpujących się zasobów oraz uzyskanie lepszej jakości materiału z kultur *in vitro* dla potrzeb farmaceutycznych. Celem pracy było także opracowanie metody pozyskiwania

materiału z kultur *in vitro* o powtarzalnych i maksymalnych zawartościach substancji czynnych. Do tej pory nie zostały udokumentowane żadne działania uboczne *B. monnieri*, a ponieważ brak jest potwierdzenia naukowego tego faktu, stąd postanowiono przeprowadzić badania aktywności biologicznej.

Zastosowane eksperymentalne kultury *in vitro* *Bacopa monnieri* pozwoliły na uzyskanie biomasy wzbogaconej w biometale i ważne leczniczo metabolity wtórne (bakozydy, kwasy fenolowe, związki indolowe).

Po raz pierwszy oznaczono w biomacie z kultur *in vitro* *B. monnieri* związki fenolowe takie jak: kwas chlorogenowy, kwas neochlorogenowy i kwas kawowy oraz związki indolowe: L-tryptofan i serotoninę. Ponadto oznaczono kwasy tłuszczowe i stwierdzono, że kwasem tłuszczowym występującym w największej ilości w badanym materiale był kwas palmitynowy.

W przeprowadzonym eksperymencie udowodniono, że przez odpowiedni dobór prekursorów można mieć wpływ na otrzymywanie biomasy *B. monnieri* o zwiększonym potencjale leczniczym.

W prezentowanej pracy wyprowadzono kultury *in vitro* *B. monnieri* na płynnej pożywce według Murashige i Skoog z kwasem nikotynowym, mio-inozytolem i witaminą B₁ (4,0 mL/L) oraz z regulatorami wzrostu: benzyloaminopuryną (BAP) 1,0 mg/L i kwasem naftalenoctowym (NAA) 0,2 mg/L. Dokonano udanych modyfikacji podłoża MS polegających na jego wzbogacaniu następującymi substancjami o fizjologicznej aktywności: siarczanem(VI) magnezu, wodorooasparginianem cynku, L-tryptofanem, seryną i kwasem antranilowym w różnych stężeniach, w celu uzyskania efektywniejszej akumulacji pożądaných w biomacie składników o działaniu leczniczym (biometale, bakozydy, związki fenolowe i indolowe). Użyto również tych związków w różnych kombinacjach, np.: kwas antranilowy z siarczanem magnezu oraz serynę z siarczanem(VI) magnezu.

Wzbogacanie pożywki w serynę lub kwas antranilowy skutkowało zwiększeniem stężenia pierwiastków w biomacie *B. monnieri*. Najwyższe stężenie bakozydów oznaczono w biomacie prowadzonej na pożywkach zawierających serynę z siarczanem(VI) magnezu i wynosiło ono 37,3 mg/g suchej masy (sm).

W badaniach biologicznych wykazano, że ekstrakty z biomasy z kultur *in vitro* *B. monnieri* wykazują działanie ochronne przeciwko uszkodzeniom wywołanym stresem oksydacyjnym w modelach komórkowych.

Stwierdzono wpływ ekstraktów z biomasy z kultur *in vitro* *B. monnieri* na hamowanie migracji komórek raka prostaty.

Poza tym, że wykazano ochronne działanie ekstraktów z biomasy *B. monnieri* z kultur *in vitro* na żywotność neuronów, udowodniono również po raz pierwszy, że mogą one osłabiać procesy apoptozy. Potwierdzono też, że badane ekstrakty wykazują działanie antyoksydacyjne, co może przyczynić się do opracowania w przyszłości obiecującej procedury neuroprotekcijnej.