

Tytuł: *Poszukiwanie związków pochodzenia naturalnego w terapii schorzeń o podłożu zapalnym*

Według raportów Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organisation, WHO*) z 2023 roku, chroniczne choroby niezakaźne (ang. *Noncommunicable diseases, NCDs*) tj. schorzenia układu sercowo-naczyniowego, nowotwory, cukrzyca typu II, choroby autoimmunologiczne i neurodegeneracyjne są przyczyną 7 na 10 zgonów, co koresponduje z 41 milionami przypadków rocznie (w tym 17 milionom ludzi umierających przedwcześnie – przed 70 rokiem życia). Ponadto, istotnym problemem jest rosnący odsetek pacjentów (także wśród dzieci i młodzieży) doświadczających czynników ryzyka rozwoju NCDs tj. nadciśnienie, dyslipidemia, hiperglikemia, otyłość i wynikająca z niej insulinooporność, określane przez WHO pod ogólnym pojęciem Zespołu Metabolicznego (ang. *Metabolic syndrome, MetS, zespół X*).

Fundamentalną rolę w rozwoju NCDs przypisuje się powstawaniu ogólnoustrojowego, subklinicznego stanu zapalnego, określanego terminem „metazapalenia”, pierwotnie związanego z otyłością, wynikającą z niebilansowanej, wysoko przetworzonej diety, ubogiej w produkty pochodzenia roślinnego, ograniczonej aktywności fizycznej i dynamicznego rozwoju przemysłu, prowadząc do wieloukładowych interakcji immunologicznych, tj. pobudzenia ścieżek sygnalizacji zapalnej i rozwoju stresu oksydacyjnego.

Rosnące zapotrzebowanie na zasoby systemu ochrony zdrowia oraz postępujące starzenie się społeczeństw generują stałą potrzebę wdrażania skutecznej profilaktyki ograniczającej rosnący odsetek zapadalności na chroniczne choroby niezakaźne. W związku z tym w ostatnich latach wiele uwagi poświęca się korelacji pomiędzy higieną stylu życia i prawidłowo zbilansowaną dietą, bogatą w produkty pochodzenia roślinnego, połączonej z racjonalną suplementacją.

Z uwagi na plejotropowe mechanizmy działania substancji naturalnych, wynikające z ich różnorodności strukturalnej, a także tworzenia licznych metabolitów pośrednich, o znamiennej aktywności biologicznej, surowce roślinne stanowią w ostatnich latach cenne źródło substancji wprowadzanych do lecznictwa lub stosowanych jako bazę do tworzenia nowych połączeń o potencjale terapeutycznym. Nie bez znaczenia wydaje się także fakt, że 80% populacji w krajach rozwijających się docenia wartość medycyny tradycyjnej jako elementu terapii, przy czym aż 40% preparatów farmaceutycznych w skali globalnej opiera się na produktach pochodzenia naturalnego. Pomimo wieloletniego wykorzystania niektórych substancji roślinnych w lecznictwie tradycyjnym, niedostateczna ilość badań przedklinicznych oraz klinicznych, a także brak standaryzacji na zawartość składników czynnych podważa wiarygodność ich stosowania. Ponadto, wiele lokalnych źródeł surowców nie jest wykorzystywanych, z uwagi na nieznaną skład oraz ich potencjału terapeutycznego.

Pragnąc wpisać się w powyższy kontekst badawczy, **celem** niniejszej pracy była kompleksowa analiza składu fitochemicznego wyciągów, przygotowanych z liści 4 gatunków roślin z rodziny Olaceae oraz izolacja jednorodnych związków chemicznych dominujących w ich składzie. **Celem** pracy była także szczegółowa ocena aktywności biologicznej wyciągów oraz pojedynczych związków, prowadząca do wytypowania grupy wtórnych metabolitów

roślinnych o najwyższym potencjale przeciwzapalnym i wyjaśnienia molekularnych mechanizmów ich działania.

W toku analizy fitochemicznej LC-MS przeanalizowano skład wyciągów przygotowanych z liści 4 gatunków należących do rodziny Oleaceae, w tym 3 gatunków forsycji, zebranych w 2 różnych porach wegetacji oraz liści jesionu wyniosłego. Wysoka zawartość związków z grupy polifenoli w wyciągach przygotowanych z liści 3 z 4 badanych gatunków (liści forsycji zwisłej oraz forsycji pośredniej zebranych w maju, a także liści jesionu wyniosłego) była podstawą do przeprowadzenia izolacji jednorodnych związków z grupy lignanów, fenyloetanoidów i sekoirydoidów.

Badania w warunkach *in vitro* przeprowadzono w modelu stymulowanych LPS komórek monocytów/makrofagów PBMC oraz komórek makrofagów TDM, różnicowanych z monocytarnej linii komórek THP-1. W toku niniejszej pracy oceniono m.in. cytotoksyczność poszczególnych wyciągów roślinnych oraz pojedynczych związków, a także ich wpływ na stopień wydzielania mediatorów prozapalnych (TNF- α , IL-6, IL-1 β , MPC-1) i przeciwzapalnych (IL-10, IL-10R, TGF- β) z wykorzystaniem testów immunoenzymatycznych ELISA i cytometrii przepływowej. Z uwagi na obiecujące wyniki badań przeprowadzonych dla szerokiego przekroju związków z grupy lignanów (19 struktur) oraz ich powszechną obecnością w produktach spożywczych i wielu surowcach naturalnych, w toku badań określono wpływ 7 najaktywniejszych struktur z tej grupy na modulację ekspresji ścieżek sygnałowych kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (ang. *Mitogen activated protein kinases*, MAPK) i jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (ang. *The Nuclear Factor kappa B*, NF- κ B) z użyciem metody western blot. Ponadto, oceniono wpływ dwóch najaktywniejszych struktur (arktyiny i arktygeniny) na modulację przebiegu sygnału za pośrednictwem receptorów TLR w komórkach makrofagów stymulowanych roztworem bakteryjnego lipopolisacharydu z użyciem metody real-time PCR. Dla wybranych związków z grupy lignanów oceniono ich wpływ na zmiany w procesach akumulacji cholesterolu w komórkach makrofagów, za pośrednictwem receptora CD36 oraz transporterów ABCA-1 z towarzyszącą sygnalizacją HO-1/Nrf-2.

Wyniki uzyskane w ramach realizacji niniejszej pracy doktorskiej dowodzą wysokiej wartości formułacji przygotowanych z liści gatunków *Forsythia* (zebranych w porze wiosennej) oraz *Fraxinus*, w kontekście potencjalnej profilaktyki schorzeń o podłożu zapalnym. Przedstawione rezultaty mogą stanowić punkt wyjścia do poszerzonych badań epidemiologicznych, fitochemicznych i farmakologicznych, które w przyszłości mogłyby wyznaczyć potencjalne kierunki wprowadzenia liści forsycji do fitoterapii, a także innowacyjnego wykorzystania związków z grupy lignanów jako elementów żywności funkcjonalnej czy suplementów diety.

Słowa kluczowe: choroby niezakaźne, makrofagi, Oleaceae, lignany, fenyloetanoidy, stan zapalny, cholesterol, miażdżyca,