

dr n. med. Karina Schönknecht
Kierownik Działu Informacji Naukowej

Streszczenia prac zaprezentowanych na Bonifraterskiej Konferencji Ziołolecznictwa 2019 w Warszawie

Bonifraterska Konferencja 2019 pt. „Fitoterapia, Tradycja, Współczesność, Perspektywy rozwoju”, odbyła się w dniu 29 listopada 2019 roku w Centrum Medycznym Bonifratrów w Warszawie. Została ona zorganizowana przez Prowincję Polskiego Zakonu Bonifratrów przy współudziale Sekcji Fitoterapii Polskiego Towarzystwa Lekarskiego oraz Centrum Medycznego Bonifratrów w Warszawie.

Wykłady plenarne

Prowincjał brat Łukasz Dmowski OH

1. Od *decoctum* po PET, czyli 450 lat bonifraterskiego szpitalnictwa

Konwent Bonifratrów pw. św. Ryszarda Pampuri w Warszawie

Bonifratrzy to Zakon Szpitalny Świętego Jana Bożego (1495-1550), który powstał w hiszpańskiej Grenadzie. Na przełomie XVI i XVII wieku fundowano liczne konwenty nie tylko w Europie (w tym w Polsce, w Krakowie w 1609 roku), ale i w Nowym Świecie (np. w Kolumbii w 1596 roku), a to wszystko dzięki fachowości braci w zakresie leczenia i pielęgnowania chorych. Bracia ślubują szpitalnictwo (od łac. *hospitalitas* – gościnność), zobowiązując się do troski i otwartości na potrzeby drugiego człowieka – niezależnie od jego pochodzenia czy wyznania. Wkład bonifratrów w rozwój nauk medycznych to m.in. wprowadzenie dokumentacji medycznej – ksiąg chorych, przeprowadzenie pierwszego w Europie znieczulenia z zastosowaniem eteru (Celestyn Opitz, 1847 rok), rozpowszechnianie wiedzy medycznej poprzez poradniki dla ubogich warstw społeczeństwa (Ludwik Perzyna, lata 1742-1800; brat ten wprowadził do polskiego języka medycznego takie terminy, jak „położna” czy „surowica”). Obecnie bonifratrzy to bracia (na świecie jest ich ok. 1040) i współpracownicy świeccy (ok. 50 tys.), którzy prowadzą blisko 400 ośrodków pomocy i centrów medycznych, w tym szpitale w Afryce Zachodniej, w których walczone z epidemią wirusa Ebola na przełomie lat 2014/2015.

Tradycją Polskiej Prowincji Zakonu Szpitalnego jest ziołolecznictwo. Zostało ono zapoczątkowane przed II wojną światową w Wilnie przez braci – magistrów farmacji. W aptekach bonifraterskich dostępne są

zarówno gotowe preparaty ziołowe w postaci nalewek czy herbatek, jak i przeznaczone do zaparzania zioła sypkie. Ich zestawy są dobierane indywidualnie podczas wizyty pacjenta w jednej z poradni ziołolecznictwa działających przy konwentach w Łodzi, Warszawie, Krakowie, Wrocławiu i Cieszynie.

Polska Prowincja Zakonu Szpitalnego prowadzi obecnie 4 szpitale: w Katowicach, Krakowie, Łodzi i Piaskach, hospicjum stacjonarne we Wrocławiu, 11 hospicjów domowych na Dolnym i Górnym Śląsku, jednostki pomocy społecznej w Iwoniczu, Cieszynie, Konarach i Zebrzydowicach oraz dom seniora i poradnie specjalistyczne w Warszawie, dom pomocy w Prudniku, stację opieki środowiskowej w Drohobyczu; polscy bonifratrzy posługują ponadto w Rzymie i Nazarecie. Wspomniane wyżej szpitale i domy pomocy powróciły pod zarząd zakonu po 1989 roku. W ostatnich latach unowocześniana została forma prawna szpitali bonifraterskich – Zakonu Szpitalnego z ośrodków istniejących przy konwencie na spółki z o.o., których wyłącznym właścicielem jest zakon.

Bonifratrzy działający w 55 krajach świata promują szpitalnictwo, które charakteryzuje się szacunkiem dla drugiego człowieka, odpowiedzialnością, uwzględnianiem duchowego wymiaru człowieka i stale udoskonalaną jakością. Dzięki zaangażowaniu osób świeckich, pomimo malejącej liczby braci, obejmują oni opieką coraz większą liczbę ludzi potrzebujących pomocy, oferując im nie tylko tradycyjne nalewki, odwary (*decocta*), ale także nowoczesne metody lecznicze i diagnostyczne, jak tzw. PET, czyli pozytronową tomografię emisyjną, która wkrótce będzie działać w naszym szpitalu w Nazarecie.

Prof. dr hab. n. farm. Anita Magowska

2. Fitoterapia w ujęciu historycznym

*Katedra i Zakład Historii i Filozofii Nauk Medycznych, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu*

Praca przedstawia fitoterapię w ujęciu historycznym, a więc wszystko to, co wyróżnia ją jako dziedzinę medycyny i wpływa na jej popularność, a w konsekwencji oddziałuje na rynek leków roślinnych. W ciągu wieków, zależnie od etapu rozwoju nauki, a także czynników ekonomicznych, politycznych i społecznych te same aspekty fitoterapii mogły być uznane za jej słabą lub mocną stronę. I tak, wielokierunkowe działanie roślin leczniczych było cenione przez lekarzy do XVII wieku, w którym przeprowadzono pierwsze analizy związków chemicznych stosowanych w medycynie. Ówczesna metodyka badawcza nie pozwalała jednak na ocenę jakościową, ilościową i farmakologiczną surowców roślinnych zawierających wiele składników. W miarę wprowadzania do terapii coraz to nowych związków chemicznych, lekarze wycofywali się z ziołolecznictwa. Dopiero w XXI wieku nowe technologie badawcze i metody molekularne dostarczyły dowodów naukowych na znaczenie leków roślinnych w terapii tych chorób, wobec których medycyna pozostaje w dużym stopniu bezradna, jak: nowotwory, cukrzyca, choroby neurodegeneracyjne i psychiczne. Tak szerokie zastosowanie znalazły przede wszystkim rośliny lecznicze stosowane w chińskiej medycynie tradycyjnej, a w mniejszym stopniu w innych egzotycznych systemach lecznictwa, jak Unani czy Siddha.

Postęp naukowo-techniczny przeorientował także badania nad roślinami leczniczymi i praktykę ich wytwarzania, a ponadto wyznaczył nową strategię kontroli jakości leków roślinnych. Obecne standardy oceny ich jakości trzeba uznać za mocną stronę fitoterapii, ale wysoki koszt ich zapewniania spowodował wykluczenie z rynku wielu małych firm. Słabą stroną fitoterapii pozostaje brak całkowitej harmonizacji handlu międzynarodowego surowcami roślinnymi i ich przetworami. W poszczególnych państwach obowiązują wprowadzone różne regulacje prawne, ale trendy w tym zakresie wyznaczają mocarstwa ekonomiczne, takie jak USA i Niemcy. Swobodzie handlu międzynarodowego sprzyja rejestrowanie części przetworów roślin leczniczych jako suplementów diety lub dodatków do żywności. Osobnym wątkiem jest wpływ ustroju politycznego na popularność leków roślinnych. Władze komunistycznej Polski wspomagały rozwój ziołolecznictwa, aby uniknąć drogiego importu leków z Zachodu. Mimochodem w ten sposób podtrzymały wielowiekowe polskie tradycje samoleczenia ziołami.

SESJA NR 1A

Badania nad aktywnością biologiczną produktów pochodzenia roślinnego

*Mgr farm. Mateusz Wieczorek, dr n. farm. Elżbieta Studzińska-Sroka,
dr hab. n. farm. Judyta Cielecka-Piontek, prof. UM*

1. Ocena właściwości przeciwcukrzycowych wybranych preparatów roślinnych dostępnych w Polsce

*Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu*

Wstęp. Dane Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (International Diabetes Federation – IDF) wskazują, że w 2016 roku na świecie było 425 mln chorych na cukrzycę, w tym w Polsce około 2 mln osób. W związku z rosnącym problemem, ogromnym wyzwaniem dla współczesnej nauki jest poszukiwanie leków przeciwcukrzycowych. Zarówno medycyna tradycyjna, jak i dane naukowe dowodzą, że stosowanie ekstraktów roślinnych może okazać się skutecznym sposobem na obniżenie łagodnej hiperglikemii pojawiającej się w początkowych stadiach cukrzycy. Ich działanie często polega na hamowaniu α -glukozydazy znajdującej się w rąbku szczoteczkowym jelita cienkiego, odpowiedzialnej za konwersję polisacharydów do cukrów prostych, i w efekcie na hamowaniu wchłaniania glukozy oraz zmniejszeniu glikemii poposiłkowej. Działanie ochronne ekstraktów roślinnych u chorych na cukrzycę jest wyrażone potencjałem ich działania przeciwutleniającego. Celem prowadzonych badań była ocena zadeklarowanego działania hipoglikemicznego herbatek ziołowych typu fix, dostępnych na polskim rynku. Weryfikację działania hipoglikemicznego przeprowadzono, badając zdolność hamowania α -glukozydazy, jak również aktywność przeciwutleniającą naparów sporządzonych z herbatek ziołowych. W odniesieniu do potencjału przeciwutleniającego dodatkowo w badanych herbatkach ziołowych oceniano całkowitą zawartość polifenoli, w tym flawonoidów.

Materiał i metody. Analizowano 9 preparatów handlowych w postaci ziołowych herbatek typu fix dostępnych w Polsce. Dla każdego z preparatów sporządzono napar (w proporcji 2 g/200 ml wrzącej wody; zaparzanie pod przykryciem przez 15 min), który następnie zagęszczano przy użyciu wyparki próżniowej. Zdolność hamowania α -glukozydazy oceniano *in vitro* metodą spektrofotometryczną, stosując jako substrat p-nitrofenylo- α -D-glukopiranozyd. Właściwości przeciwutleniające badano metodami z DPPH oraz CUPRAC, sumę polifenoli określano przy użyciu odczynnika Folin-Ciocalteu, podczas gdy zawartość flawonoidów oceniano, stosując chlorek glinowy.

Wyniki. Produktami najsilniej hamującymi enzym (hamowanie przy najniższym stężeniu wynosiło odpowiednio 94 i 87%) były preparaty zawierające: liść morwy (70%) i korę cynamonu (30%), jak również mieszanka składająca się z morwy białej (15,4%), owocu czarnej porzeczki (29%), owocu aronii (29%), owocu jabłoni (26%), a także łuski gryki (0,3%) i naowocni fasoli (0,3%). Wspomniane preparaty miały również wysoką aktywność przeciwutleniającą. Wykazano, że zawartość polifenoli, w tym flawonoidów, koreluje z aktywnością hamowania α -glukozydazy.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, że roślinne suplementy diety w postaci herbatek typu fix wykazują aktywność hipoglikemiczną i przeciwutleniającą. Otrzymane wyniki dostarczają więc wskazówek przy wyborze kompozycji ziołowej, która mogłaby być zastosowana pomocniczo w walce z chorobą. W celu oceny wpływu przyjmowanych naparów na poziom cukru we krwi potrzebne są jednak dalsze badania o charakterze klinicznym.

Dr n. biol. Julita Nowakowska¹, dr n. med. Monika Kolanowska², Julia Cyran^{1, 3},
prof. dr hab. n. chem. Krzysztof Gulewicz⁴

2. Ocena aktywności biologicznej preparatów z kory *Uncaria tomentosa*: Wilcaccora Impulso i Ganomix

¹Pracownia Mikroskopii Elektronowej i Konfokalnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

²Laboratorium Genetyki Nowotworów Człowieka, Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego

³Centrum Biostruktury, Zakład Immunologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁴Instytut Chemii Bioorganicznej, Polska Akademia Nauk, Poznań

Wstęp. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. znana w Polsce pod nazwą wilkakora jest zdrewniałą lianą, należącą do rodziny *Rubiaceae*, rosnącą w wilgotnych lasach Ameryki Środkowej i Południowej. Preparaty przygotowywane z kory, liści lub korzeni były i są podstawą naturalnej medycyny tamtych rejonów świata. Właściwości lecznicze warunkują aktywne biologicznie składniki, takie jak: tetracykliczne i pentacykliczne alkaloidy indolowe i oksoindolowe, triterpeny, glikozydy kwasu chinowego, flawonoidy, katechiny, procyjanidyny i inne. Obecność tych związków sprawia, że ekstrakty z *Uncaria tomentosa* działają przeciwwirusowo, immunostymulująco i antyproliferacyjnie. Ze względu na te właściwości preparaty z *Uncaria tomentosa* są stosowane m.in. we wspomaganiu leczenia zakażeń wirusowych, zaburzeń immunologicznych czy chorób nowotworowych. Z kolei zarodniki grzyba Reishi to znany w ludowej medycynie azjatyckiej surowiec, wykazujący *in vitro* szeroki zakres działania, m.in. hamowanie proliferacji komórek nowotworowych.

Materiał i metody. Przebadano aktywność preparatu Wilcaccora Impulso (atomizowany ekstrakt z kory *Uncaria tomentosa* i Ganomix (mieszanka rozdrobnionej kory *Uncaria* i sproszkowanych zarodników Reishi)). Kontrolę stanowiła sproszkowana kora *Uncaria tomentosa*. Preparaty Wilcaccora Impulso i Ganomix wytworzone zostały na bazie tej samej kory co kontrola i pochodziły z tego samego źródła (Centrum Ziołolecznictwa „Wilcaccora” w Łomiankach). Preparaty ekstrahowano wodą w temperaturze 80°C, a następnie odwirowywano. Aktywność biologiczną ekstraktów przebadano, wykorzystując roślinny test *Allium*, a ich właściwości przeciwnowotworowe przebadano w warunkach *in vitro* na komórkach MCF-7 (linia estrogenozależnego gruczolaka piersi).

Wyniki. Badania przeprowadzone za pomocą testu *Allium* wykazały, że wszystkie badane preparaty charakteryzowały się wysoką aktywnością biologiczną, a jednocześnie nie wykazywały właściwości cytotoksycznych ani mutagennych. Najsilniejsze działanie antymitotyczne wykazał preparat Wilcaccora Impulso, który spowodował prawie całkowite zahamowanie podziałów komórek nowotworowych gruczolaka piersi. Ganomix i wodny ekstrakt z kory *Uncaria tomentosa* również działały antymitotycznie, ale dopiero po zastosowaniu wyższych stężeń, przy czym preparat Ganomix wykazywał większą aktywność niż wodny ekstrakt ze sproszkowanej kory (kontrola).()

Wnioski. Przebadane preparaty z kory *Uncaria tomentosa* wykazują *in vitro* wysoką aktywność antymitotyczną wobec komórek linii estrogenozależnego gruczolaka piersi. Wyższa aktywność biologiczna preparatu Wilcaccora Impulso w porównaniu z preparatem Ganomix i kontrolą wskazuje na wyższą zawartość związków biologicznie aktywnych w atomizowanym ekstrakcie. Bardzo wysokie rozdrobnienie atomizowanej kory wpływa istotnie na wydajność ekstrakcji, a tym samym na wzrost stężenia związków biologicznie aktywnych. Natomiast wyższa aktywność biologiczna preparatu Ganomix, w porównaniu ze sproszkowaną korą *Uncaria tomentosa* (kontrola), może wynikać z dodatkowego działania biologicznego składników grzyba Reishi lub z efektu synergistycznego. W badaniach nie wykazano działania cytotoksycznego ani mutagennego żadnego z preparatów.

*Dr n. farm. Anna Głowniak-Lipa¹, dr hab. n. farm. Izabela Korona-Głowniak²,
dr hab. n. farm. Agnieszka Ludwiczuk², dr hab. n. farm. Tomasz Baj²,
prof. dr hab. n. farm. Anna Malm²*

3. Olejki eteryczne w terapii zakażeń *Helicobacter pylori*

¹Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie

²Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp. *Helicobacter pylori*, drobnoustrój chorobotwórczy błony śluzowej żołądka człowieka, w 1994 roku został uznany za czynnik rakotwórczy I klasy przez Międzynarodową Agencję Badań Nad Rakiem (IARC), ponieważ według danych statystycznych zakażenie *H. pylori* w 1-2% przypadków prowadzi do raka żołądka, a także jest główną przyczyną rozwoju chłoniaków typu MALT (ang. *mucosa associated lymphoid tissue lymphoma*). Może także powodować szereg innych chorób, m.in. dyspepsję, wrzody żołądka i dwunastnicy (10-20%), chorobę Ménériera, niedokrwistość z niedoboru żelaza o niewyjaśnionej etiologii, idiopatyczną płamicę małopłytkową, niedobór witaminy B₁₂, choroby układu krążenia. Skala problemu jest duża, ponieważ *H. pylori* jest przyczyną zakażeń ponad połowy ludzkości. Jednocześnie bakteria ta cechuje się częstą lekoopornością, dlatego w celu jej eradykacji zaleca się terapię 2-3 antybiotykami lub chemioterapeutykami, co z kolei naraża pacjenta na działania niepożądane. Po skutecznej eradykacji istnieje duże ryzyko powtórnego zakażenia. A zatem istnieje potrzeba poszukiwania alternatywnych metod terapii zakażeń *H. pylori*.

Materiał i metody. Prezentowane badania polegały przede wszystkim na ocenie aktywności *in vitro* wybranych olejków eterycznych, dostępnych na rynku w Polsce, wobec klinicznych szczepów *H. pylori*, zarówno wrażliwych, jak i opornych na antybiotyki i chemioterapeutyki stosowane w terapii. Ocenę przeprowadzano na podstawie wartości najmniejszego stężenia hamującego (MIC) uzyskanych w badaniu metodą rozcieńczeń w podłożu stałym, z uwzględnieniem oznaczenia MIC₅₀ i MIC₉₀, czyli wartości hamujących odpowiednio 50 i 90% badanych szczepów. Oceniano także wpływ wytypowanych olejków na aktywność bakteryjnej ureazy *H. pylori*, a także określano ich aktywność przeciwutleniającą. Wybrane olejki poddano również analizie fitochemicznej metodą GC-MS, a uzyskane wyniki oceniano statystycznie metodą PCA (analiza głównych składowych), umożliwiającą podział badanych olejków na grupy fitochemiczne.

Wyniki. Najaktywniejsze wobec klinicznych szczepów *H. pylori* były olejki oregano i cedrowy, które wykazały wartości MIC₉₀ = 62,5 mg/l, przy czym wykazywały one podobną aktywność zarówno wobec szczepów klinicznych wrażliwych, jak i opornych na antybiotyki i chemioterapeutyki najczęściej stosowane w terapii zakażeń *H. pylori*. Olejek cedrowy wykazywał wysoką zdolność hamowania aktywności ureazy (IC₅₀ = 5,3 mg/l).

Wnioski. Wyniki powyższych badań wskazują na możliwość stosowania olejku cedrowego (*Oleum Juniperi*) we wspomaganiu terapii zakażeń *H. pylori*, w przypadku szczepów opornych na najczęściej stosowane antybiotyki i chemioterapeutyki, jak również w przypadku niepowodzenia wcześniejszego leczenia.

*Dr hab. n. med. Monika Sienkiewicz¹, dr n. farm. Ewa Kochan²,
prof. dr. hab. n. med. Edward Kowalczyk³, prof. dr. hab. n. med. Barbara Dołęgowska⁴,
mgr inż. Paweł Kwiatkowski⁴*

4. Aktywność olejków eterycznych i ich składników w połączeniach z chemicznymi substancjami przeciwbakteryjnymi

¹Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Biotechnologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Zakład Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁴Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Wstęp. Uporczywe zakażenia, powodowane przez bakterie odporne na antybiotyki, niosą potrzebę znalezienia skutecznych środków przeciwdrobnoustrojowych. Ze względu na rozprzestrzenianie się kolonizujących błony

śluzowe nosa szczepów *Staphylococcus aureus* MRSA, istotne jest poszukiwanie substancji, które będą zapobiegać przenoszeniu oporności na mupirocynę. Przyczyną trudności w leczeniu są również szczepy *S. aureus* MSSA o różnych wzorach oporności oraz szczepy o wzorze oporności MLSB. Z kolei nowym wyzwaniem są szczepy *Klebsiella pneumoniae* New Delhi, wytwarzające enzym NDM-1. Celem badań było określenie aktywności wybranych olejków eterycznych i ich składników oddzielnie oraz w połączeniach z chemicznymi środkami przeciwbakteryjnymi.

Materiały i metody. Aktywność olejku geraniowego wobec *Staphylococcus aureus* MRSA i MLSB oraz wpływ olejku z kopru włoskiego i trans-anetolu na aktywność mupirocyny wobec szczepów izolowanych od bezobjawowych nosicieli badano za pomocą metody rozcieńczeń w agarze, E-testu i metody dyfuzyjno-krażkowej. Połączenie olejku z kopru włoskiego z H₂O₂ wobec szczepów MRSA i MSSA badano metodą szachownicy. Aktywność mupirocyny i składników olejków eterycznych wobec MRSA^{MupS} i MRSA^{MupRL} określano metodą mikrorozcieńczeń w bulionie. Do oceny działania olejków: kminkowego, z kopru włoskiego, mięty pieprzowej, geraniowego, bazyliowego, goździkowego, tymiankowego, z szalwii muskatołowej i lawendowego w połączeniu z gentamycyną, wobec szczepów *K. pneumoniae*, o wzorze oporności ESBL i NDM-1, także użyto metody szachownicy. Skład olejków eterycznych analizowano metodą GC-MS.

Wyniki. Olejek geraniowy hamował wzrost szczepów *S. aureus* MRSA. Olejek z kopru włoskiego w stężeniach 2,0 i 2,5% wykazywał aktywność wobec 76,7% szczepów MRSA, podczas gdy trans-anetol działał w stężeniach > 4,0%. Wartości MIC dla mupirocyny w połączeniu z olejkami z kopru włoskiego i trans-anetolem były niższe od 0,064 µg/ml. Olejek z kopru włoskiego zwiększał strefy zahamowania wokół krążków z cefoksytyną, mupirocyną, kotrimoksazolem i ciprofloksacyną. Kombinacje olejku z kopru włoskiego i H₂O₂ wykazały również działanie synergistyczne wobec *S. aureus*. Stwierdzono także działanie synergistyczne 1,8-cineolu w połączeniu z mupirocyną wobec szczepów MRSA^{MupS} i MRSA^{MupRL}. Działanie synergistyczne wykazano również w przypadku mentonu i mupirocyny wobec MRSA^{MupS}. Eugenol, karwakrol i trans-anetol wykazały działanie addytywne z mupirocyną wobec szczepów MRSA^{MupRL}. Olejek miętowy z gentamycyną działał ponadto synergistycznie wobec szczepów *K. pneumoniae* o wzorach oporności ESBL i NDM-1. Olejek kminkowy wykazywał z kolei działanie synergistyczne z gentamycyną w stosunku do bakterii *K. pneumoniae* o wzorze oporności ESBL.

Wnioski. Olejek geraniowy może być stosowany jako dodatek do preparatów przeciwegronkowcowych. Dobre efekty uzyskuje się przy połączeniu mupirocyny z olejkami z kopru włoskiego, trans-anetolem, 1,8-cyneolem, mentonem, eugenolem i karwakrolem. Ze względu na synergistyczne działanie gentamycyny i olejku z mięty pieprzowej połączenie to można wykorzystać w leczeniu zakażeń wywołanych przez *K. pneumoniae* New Delhi.

SESJA NR 1B

Postępy technologii farmaceutycznej produktów pochodzenia roślinnego

Prof. dr hab. n. farm. Małgorzata Sznitowska

1. Rozwój technologiczny dermatologicznych roślinnych produktów leczniczych

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp. Na rozwój produktu leczniczego składają się badania technologiczne, które muszą uwzględniać nie tylko metodę wytwarzania czy trwałość, ale przede wszystkim założone cechy biofarmaceutyczne. To te cechy decydują, jaka jest forma aplikacyjna produktu, podłoże i substancje pomocnicze, a także jaki będzie wymagany zakres badań biodostępności lub biorównoważności.

Zakres wymaganych badań i podstawowe problemy. Do postaci leków stosowanych na skórę zalicza się m.in.: maści, kremy, żele, pasty, plastry i okłady. Wybór danej formy wynika głównie z założonych cech aplikacyjnych, uwzględniających: stan skóry, szybkość penetracji substancji czynnych i miejsce działania leku. Dzięki odpowiednio dobranemu podłożu można uzyskać preparaty transdermalne (działanie ogólne lub w głębszych tkankach) względnie typowo dermatologiczne. W roślinnych preparatach dermatologicznych istotny jest wybór przetworu (np. ekstrakt suchy lub nalewka), co decyduje z kolei o wyborze podłoża i technologii. Istotna jest znajomość składu chemicznego zastosowanego przetworu roślinnego i ustalenie potencjału składników przenikających przez warstwę rogową skóry. Promotory wchłaniania substancji przez skórę mogą być bardzo pomocne, ale mogą także prowadzić do zbyt dużej penetracji składników aktywnych lub towarzyszących powodujących działania niepożądane. Do oceny skuteczności działania preparatu służą nie tylko badania kliniczne, ale także ocena zdolności uwalniania substancji biologicznie aktywnych oraz przenikania przez izolowaną skórę w warunkach *in vitro*. Omówiono również ograniczenia tej metody.

Wnioski. Z powodu niedostatecznej wiedzy o przezskórnej penetracji kompleksu substancji biologicznie aktywnych, występujących w ekstraktach roślinnych, wpływie podłoża maściowego na ten proces, jak również z powodu braku standardowych metod badawczych, rozwój dermatologicznych roślinnych produktów leczniczych jest często trudniejszy niż rozwój form doustnych.

*Dr n. farm. Elżbieta Nowak¹, dr n. farm. Zbigniew Marczyński², dr n. med. Beata Skibska²,
dr n. farm. Michał J. Nachajski², dr n. farm. Jerzy Jambor¹,
prof. dr. hab. n. farm. Andrzej Stańczak², prof. dr. hab. n. farm. Marian M. Zgoda²*

2. Litogenolityczne i solubilizacyjne właściwości produktów ekstrakcji liści bluszczu pospolitego (*Hederae helicis e folium*) – medium o zróżnicowanej polarności (ϵ_M)

¹Phytopharm Klęka S.A., Nowe Miasto nad Wartą

²Zakład Farmacji Aptecznej, Katedra Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp. Bluszcz (*Hedera helix*) jest rośliną z powodzeniem stosowaną w leczeniu różnych dolegliwości. Jest to możliwe dzięki korzystnemu składowi chemicznemu. Zawiera dużą ilość saponin, flawonoidów, kwasów fenolowych i fitosteroli, a ponadto poliacetylenów i kumaryn. Wszystkie te substancje warunkują zastosowanie surowca do produkcji preparatów kosmetycznych i leczniczych. Przeprowadzone badania kliniczne oraz bezpieczeństwa stosowania suchego ekstraktu z liści bluszczu wykazały jego wysoką skuteczność, a także lepszą tolerancję w porównaniu do leków syntetycznych.

Materiał i metody. Pomiary lepkości roztworów wodnych *Extractum Hederae helicis e folium* przeprowadzono według Polskiej Normy wiskozymetrem rozcieńczeniowym Ubbelohde'a. Napięcie powierzchniowe wodnych roztworów γ_{sol}^{25} ekstraktów z *Hederae folium* oznaczono metodą stalagmometryczną według Polskiej Normy. Wyliczono również krytyczne stężenie micelarne (cmc). Umożliwiło ono oszacowanie z zależności $\Delta G_m^0 = 2,303 RT \cdot \log cmc$, termodynamicznego potencjału tworzenia miceli (ΔG_m^0).

Wyniki. W przeprowadzonych badaniach porównawczych potwierdzono, że wodne roztwory *Extr. Hederae helicis e folium* wytworzone z udziałem maltodekstryny, jak również z maltodekstryną i SiO_2 , solubilizują micelarnie. Zwiększenie wielkości granulometrycznej ziarna cholesterolu do $\varnothing = 1,60$ mm zmniejszyło ilość solubilizowanego cholesterolu, ale preferencje solubilizacyjne ekstraktów zostały zachowane.

Wnioski. Wytworzone modelowe ekstrakty z *Hederae folium* przy zmiennej polarności medium ekstrakcyjnego (woda-etanol) charakteryzują się sobie właściwą rozpuszczalnością składników, która wynika nie tylko z obecności chlorofilu i jego pochodnych w ekstrakcie, lecz także z techniki zastosowanej do suszenia rozpyłowego ekstraktu.

*Dr n. farm. Zbigniew Marczyński¹, prof. dr hab. n. farm. Marian M. Zgoda¹,
prof. dr hab. n. farm. Andrzej Stańczak¹, dr n. farm. Sławomira Nowak¹,
dr n. farm. Jerzy Jambor², dr n. med. Beata Skibska¹*

3. Przewidywana rozpuszczalność rzeczywista ($\log x_2$) i poziom równowagi hydrofilo-lipofilowej ($HLB_{\text{Requ.}}$) fitozwiązków zawartych w ekstraktach otrzymanych z kwiatów lipy (*Tiliae flos*) za pomocą rozpuszczalników o zróżnicowanej polarności (ϵ_M)

¹Zakład Farmacji Aptecznej, Katedra Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Phytopharm Klęka S.A., Nowe Miasto nad Wartą

Wstęp. Właściwości farmakologiczne ekstraktów z kwiatów lipy (*Tiliae flos*) wynikają z polarności i poziomu równowagi hydrofilo-lipofilowej rozpuszczalników (medium) użytych do wydzielenia kompatybilnych struktur fitozwiązków o oczekiwanym profilu farmakoterapeutycznym.

Materiał i metody. Materiał do badań stanowiły ekstrakty otrzymane z kwiatów lipy za pomocą rozpuszczalników o zróżnicowanej polarności (ϵ_M). Równanie Hildebranda-Scatcharda, uzupełnione techniką obliczeniową zaproponowaną przez Fedorsa, umożliwiła wyliczenie parametrów rozpuszczalności medium ekstrakcyjnego i fitozwiązku i mimo zastrzeżeń aplikacyjnych stanowi fundamentą podstawę do oszacowania przewidywalnej rozpuszczalności fitozwiązków w roztworze rzeczywistym.

Wyniki. Budowa strukturalna fitozwiązków wydzielonych z kwiatów lipy, dzięki zastosowaniu rozpuszczalników o znacząco zróżnicowanej polarności (stałej dielektrycznej ϵ_M) stanowiła podstawę do wyliczenia metodą Fedorsa molowej energii parowania $\Sigma\Delta\Sigma_i$ (cal/mol) i objętości molowej $\Sigma\Delta\gamma_i$ (cm³/mol), które są podstawowymi wielkościami niezbędnymi do oszacowania parametru rozpuszczalności $\delta^{1/2}$ i wymaganego rozpuszczalnościowego poziomu równowagi hydrofilo-lipofilowej $HLB_{\text{Requ.}}$

Wnioski. Wyniki zaprezentowanych badań wskazują, że w oparciu o parametry charakteryzujące strukturę fitozwiązków oraz wyliczoną rozpuszczalność idealną ($\log x_2^1$) i przewidywaną rzeczywistą ($\log x_2$) można, korzystając z ogólnej teorii rozpuszczalności Hildebranda-Scatcharda-Fedorsa, selektywnie dobrać kaskadę mediów ekstrakcyjnych tak, aby z surowca roślinnego wydzielić różniące się polarnością substancje chemiczne.

SESJA NR 2

Fitoterapia wobec globalizacji i wspólnotowych regulacji prawnych

Dr n. farm. Andrzej Ostrowicz^{1, 2}

1. Produkty ziołowe w XXI wieku

¹Polski Komitet Zielarski

²Członek Komitetu Naukowego European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP)

Rośliny lecznicze zawsze odgrywały ważną rolę w życiu każdego społeczeństwa. Dzisiaj ok. 80% populacji świata stosuje rośliny lecznicze jako produkty lecznicze, środki wspomagające zdrowie oraz suplementy diety. Historycznie rośliny lecznicze dowiodły swojego znaczenia jako źródło prostych, szeroko dostępnych wartościowych leków o zróżnicowanej aktywności farmakologicznej. Izolacja z roślin czystych, zdefiniowanych i związków biologicznie aktywnych na początku XIX wieku, takich jak: morfina, chinina, kofeina czy kodeina, stała się impulsem do rozwoju nowoczesnej farmakognozji, farmakologii i fitoterapii.

Obecnie, kiedy trwają wielki postęp naukowy, globalizacja i rozwój społeczeństw informatyczno-technologicznych, sposób korzystania z bogactwa świata roślin leczniczych będzie coraz większy. Rośliny będą wykorzystywane przede wszystkim w następujących obszarach: jako tradycyjnie stosowane zioła (TU), roślinne produkty lecznicze o ugruntowanym zastosowaniu w nowoczesnej medycynie (WEU), jako źródło nowych substancji aktywnych farmakologicznie (NCE), półprodukty do modyfikacji chemicznej nowych związków biologicznie aktywnych o korzystniejszych parametrach farmakologicznych, a także jako baza dla nowo zdefiniowanych suplementów diety.

Prof. dr hab. n. farm. Kazimierz Głowniak

2. Badania fitochemiczne gatunków roślin stosowanych w Tradycyjnej Medycynie Chin i Azji prowadzone przez grupę TCM Komisji Farmakopei Europejskiej celem opracowania ich monografii farmakopealnych

Katedra Kosmetologii, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania, Rzeszów

Tradycyjna medycyna chińska od wieków wykorzystuje w terapii szeroką gamę leków pochodzenia roślinnego. Wszechobecność ekstraktów oraz substancji roślinnych pochodzenia chińskiego na rynku światowym pociąga za sobą konieczność przeprowadzania ich wnikliwej kontroli jakości, szczególnie ze względu na fakt, iż rośliny te często występują jako substancje przetworzone, o niesprawdzonej zawartości związków biologicznie aktywnych. Kontrolę tę, ukierunkowaną na opracowanie monografii wybranych substancji roślinnych, zamieszczonych w aktualnym wydaniu Farmakopei Europejskiej, przygotowuje grupa ekspertów TCM powoływana przez Dyrektoriat Farmakopei na okres 3 lat. Zróżnicowane podejście do fitoterapii w krajach azjatyckich (Indiach, Chinach czy Mongolii) utrudnia włączenie tamtejszych leków bezpośrednio do europejskich schematów terapeutycznych.

Proces kontroli wydaje się niezwykle istotny ze względu na konieczność utrzymywania jakości materiału leczniczego, stałej zawartości związków biologicznie aktywnych, jak również potwierdzenia jego prawidłowej tożsamości, co często stwarza duże trudności. Eliminacja zanieczyszczeń, efektywna ekstrakcja składników biologicznie aktywnych z roślin oraz identyfikacja głównych markerów w ekstraktach stanowią także główne cele opracowywanych monografii farmakopealnych, które wprowadzają wytyczne odnośnie jakości dostępnych substancji roślinnych. Uwzględniają one zarówno analizę mikro- i makroskopową oraz analizę fingerprint (HPTLC), potwierdzające tożsamość, jak również wymagania zawartości głównych związków biologicznie aktywnych z opisem metod ich oznaczania ilościowego (HPLC).

Przedstawione wyniki badań dotyczą przeprowadzonej optymalizacji ekstrakcji i rozdzielania chromatograficznego indygo (*Indigo naturalis*) otrzymywanego z urzetu barwierskiego (*Polygonum tinctorium*) oraz składników traganka mongolskiego (*Astragalus mongholicus*). Ponadto omówiono liczne gatunki roślin azjatyckich dostępnych już na rynku europejskim, ze szczególnym uwzględnieniem ich działań niepożądanych oraz składników toksycznych.

Dr n. med. Dariusz Szabela^{1,2}

3. Od leków tradycyjnej medycyny chińskiej do nowoczesnych leków roślinnych i suplementów diety

¹*Centrum Medyczne Bonifratrów w Warszawie*

²*Centrum Kompleksowej Rehabilitacji w Konstancinie-Jeziornie*

Pionierami stosowania preparatów tradycyjnej medycyny chińskiej w Europie byli przed około 400 laty podróżnicy i misjonarze. Obecne możliwości komunikacyjne i technologiczne znacznie ułatwiają realizację

takiego projektu i pozwalają na przeprowadzenie go w dużej, dotychczas nieznanej skali. W 2009 roku w czasopiśmie „Stroke” opublikowano wyniki przeprowadzonych w Chinach dwóch badań, w których porównano skuteczność wspomagania rehabilitacji po udarze mózgu dwóch preparatów tradycyjnej medycyny chińskiej – Danqi Piantang Jiaonang *versus* Buchang Naoxintong. Następnie w badaniach na hodowlach komórkowych i zwierzętach doświadczalnych wykazano działanie neuroochronne i neuroodnawiające preparatów MLC601 (składniki roślinne i zwierzęce) oraz MLC901 (składniki wyłącznie roślinne), których pierwowzorem był Danqi Piantang Jiaonang.

W kolejnym etapie przeprowadzono międzynarodowe wieloośrodkowe, randomizowane, z podwójnie ślepą próbą badania preparatu MLC601, opublikowane w czasopiśmie „Stroke” w 2013 roku oraz w czasopiśmie „Cerebrovascular Diseases” w 2015 roku. Wykazały one, że skuteczność 3-miesięcznego leczenia preparatem MLC601 uwidacznia się dopiero po 6 miesiącach od udaru mózgu i utrzymuje się przez kolejne 12 miesięcy. Obecnie produkowany jest jedynie preparat MLC901, stosowany w 42 krajach na świecie. W 11 z nich jest zarejestrowany jako lek, natomiast w pozostałych 31 ma status suplementu diety, przy czym 19 z nich to państwa Unii Europejskiej.

Doświadczenia własne autora obejmują wspomaganie procesu rehabilitacji tym preparatem u kilkudziesięciu pacjentów po udarze lub urazie mózgu, hospitalizowanych na Oddziale Rehabilitacji Neurologicznej Centrum Kompleksowej Rehabilitacji Neurologicznej. W praktyce pacjent po udarze mózgu i jego lekarz w wielu krajach Unii Europejskiej są konfrontowani z sytuacją, w której istnieją poważne naukowe przesłanki do stosowania preparatu roślinnego jako leku, przy czym preparat ten zarejestrowany jest jako suplement diety. To bowiem od strategii ekonomicznej firmy produkującej preparat roślinny znany w krajach azjatyckich jako lek tradycyjnej medycyny chińskiej zależy, czy podjęcie ona ryzyko rozpoczęcia procesu jego rejestracji jako leku w Unii Europejskiej.

SESJA Nr 3A

Badanie składu i aktywności biologicznej surowców i ekstraktów roślinnych

*Mgr farm. Katarzyna Kimel, dr n. farm. Sylwia Godlewska,
prof. dr hab. n. farm. Mirosława Krauze-Baranowska*

1. Analiza składu chemicznego surowców leczniczych z rodzaju *Arnica* metodą HPLC-DAD-ESI/MS

Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp. Kwiaty arniki górskiej – *Arnica montana* L. (*Compositae*) – są stosowane od wieków jako surowiec leczniczy, a ich efekty farmakologiczne, w tym działanie przeciwzapalne, potwierdzono w licznych testach *in vitro*, *in vivo* i badaniach klinicznych. Za aktywność biologiczną surowca odpowiadają przede wszystkim laktony seskwiterpenowe, którym towarzyszą flawonoidy i kwasy fenolowe. Według monografii EMA, jedynie kwiaty *A. montana* dostarczają surowca leczniczego, jednak w praktyce fitoterapeutycznej wykorzystywane są również kwiaty *A. chamissonis*. Ponadto z całej rośliny *A. montana* otrzymywana jest nalewka macierzysta, wykorzystywana jako składnik leczniczych produktów homeopatycznych. Celem badań było rozpoznanie i porównanie składu chemicznego wymienionych surowców otrzymywanych z *A. montana* i *A. chamissonis*.

Materiał i metody. Analizę jakościową i ilościową kwasów fenolowych, flawonoidów i laktonów seskwiterpenowych – helenaliny i dihydrohelenaliny oraz ich estrów – przeprowadzono z wykorzystaniem opracowanych metod HPLC-DAD-ESI/MS na kolumnach Kinetex C-18 i Kinetex C-PFP. Z wysuszonych kwiatów

A. montana (Runo, Ogród Roślin Leczniczych) i *A. chamissonis* (Kawon) otrzymano do badań ekstrakty metanolowe. Ze świeżej całej rośliny *A. montana* (Ogród Roślin Leczniczych, GUMed) otrzymano z kolei nalewkę macierzystą Arnica TM (FP XI).

Wyniki. Arnica TM charakteryzowała się najwyższą zawartością helenaliny, estrów pochodnych helenaliny i dihydrohelenaliny oraz niektórych kwasów kawoilochinowych. Jednocześnie w porównaniu do kwiatów *A. montana* i *A. chamissonis* zawartość flawonoidów oraz kwasów fenolowych w Arnica TM była znacząco niższa. Jedynie w Arnica TM wykazano obecność 6-metoksyapigeniny, kwasu trikawoilochinowego i 3-O-glukozydu kemferolu. Ponadto w kwiatach *A. montana* po raz pierwszy wykazano obecność 7-O-glukozydu eupafoliny, 3-acetyloglukozydu kemferolu i 3-O-glukozydu luteoliny opisywanych dotychczas jedynie w kwiatach *A. chamissonis*.

Wnioski. Wysoka zawartość laktonów seskwiterpenowych oraz kwasów kawoilochinowych w nalewce z całej rośliny *A. montana* (Arnica TM) wskazuje, że preparat ten może być skutecznym lekiem o działaniu przeciwzapalnym stosowanym w praktyce fitoterapeutycznej.

Dr hab. n. farm. Wirginia Kukula-Koch

2. Zastosowanie nowoczesnych technik analitycznych w poszukiwaniu związków pochodzenia roślinnego o działaniu przeciwotępiennym i prokognitywnym

Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp. Choroby neurodegeneracyjne z uwagi na ich powszechność i stale rosnące wskaźniki zachorowalności mają charakter światowej epidemii. Wydłużenie czasu życia ludzi na przestrzeni ostatniego wieku, związane z rozwojem medycyny, przełożyło się na wzrost zapadalności na choroby zaburzające pracę ośrodkowego układu nerwowego, zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych. Według danych WHO w 2050 roku liczba osób chorych na demencję ma wynosić ponad 115 milionów. Kluczowym problemem jest zatem opracowywanie nowych metod leczenia i zapobiegania tym chorobom poprzez poszukiwanie skutecznych, biologicznie aktywnych substancji o działaniu neuroochronnym.

Metody. Celem badań była ocena możliwości wykorzystania nowoczesnych technik analitycznych: hydrostatycznej chromatografii przeciwprądowej (znanej jako odśrodkowa chromatografia podziałowa – CPC), bioautografii TLC oraz spektrometrii mas do identyfikacji aktywnych biologicznie metabolitów wtórnych w ekstraktach roślinnych oraz ukierunkowanej izolacji najbardziej wartościowych substancji.

Wyniki. Przedstawioną powyżej analizę instrumentalną i testy aktywności biologicznej przeprowadzono na przykładzie metabolitów z grupy alkaloidów izochinolinowych zawartych w ekstraktach z maku meksykańskiego i berberysu zwyczajnego. Technika bioautografii TLC z wykorzystaniem enzymu acetylocholinoesterazy, sprzężona ze spektrometrią mas, pozwoliła na identyfikację potencjalnych składowych ekstraktów o właściwościach przeciwotępiennych. Po potwierdzeniu ich zdolności do przenikania przez barierę krew-mózg (QSAR) wyizolowano dwa wybrane alkaloidy izochinolinowe z wykorzystaniem chromatografu CPC. Zastosowanie układu rozpuszczalników octan etylu-butanol-woda (0,6:1,5:3, v/v/v) pozwoliło na otrzymanie związków o wysokiej czystości, które poddano badaniom *in vivo* na myszach celem potwierdzenia skuteczności wstępnych badań bioautograficznych. Wyniki testu biernego unikania (ang. *passive avoidance test*) pozwoliły na określenie działania prokognitywnego badanych związków.

Wnioski. Zastosowane sprzężone techniki chromatograficzne oraz bioautograficzne pozwalają na określenie w ekstraktach roślinnych metabolitów o potencjalnym zastosowaniu w chorobach przebiegających z upośledzeniem pamięci.

*Mgr Filip Graczyk¹, mgr farm. Kuba Adamczyk¹, dr n. med. Rafał Kuźniewski¹,
dr n. med. Elżbieta Piskorska¹, dr n. biol. Beata Orzechowska², dr n. med. Piotr Kaczorowski¹,
dr hab. n. med. Monika Słonina-Olszewska¹, dr hab. n. farm. Daniel Załuski¹*

3. Owoce *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. potencjalnym surowcem adaptogennym

¹Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Polska Akademia Nauk, Wrocław

Wstęp. Owoce *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. od wielu lat były stosowane jako źródło związków odżywczych. Surowcem farmakopealnym są kłącza wraz z korzeniami, które działają adaptogenicznie. Działanie to ujawnia się poprzez wzrost liczby leukocytów, zwiększenie procesów energetycznych komórki oraz normalizację procesów komórkowych. Celem pracy było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, czy owoce *E. senticosus* wykazują potencjalne działanie adaptogenne.

Materiał i metody. Badaniami objęto intrakt z owoców *E. senticosus*. Materiał doświadczalny stanowiły ludzka krew obwodowa i wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej VSV (szczep Indiana; ATTC VR-1238™, *Rhabdoviridae*). Zastosowano test oporności komórek na zakażenie wirusem. Ponadto w doświadczeniu użyto fragmentów jelita grubego pochodzących od królików rasy Nowozelandzki Biały. Materiał poddano badaniom elektrofizjologicznym z wykorzystaniem zmodyfikowanej wersji komory Ussinga. Stężenie intraktu z *E. senticosus* stosowanego w badaniach wynosiło 300 µg/ml.

Wyniki. Wykazano, że intrakt z *E. senticosus* zwiększał proliferację ludzkich leukocytów krwi obwodowej, jak również wpływał na naturalną odporność ludzkich leukocytów, zmniejszając ich wrażliwość na zakażenie wirusem VSV. Ponadto stwierdzono brak działania prozapalnego intraktu po stymulacji ludzkich leukocytów krwi obwodowej (brak istotnych zmian w poziomie interleukiny 2), przy czym zaobserwowano działanie przeciwzapalne intraktu (wzrost poziomu interleukiny 10). Uzyskane wyniki wykazały, że intrakt istotnie wpływa na zmiany przeznabłonkowego potencjału elektrycznego izolowanych fragmentów jelita królika. Intrakt zastosowany w płynie stymulacyjnym, podobnie jak mechaniczne stymulacje kontrolne, wywoływał reakcje o charakterze hiperpolaryzacji.

Wnioski. Na podstawie analizy wyników badań można zasugerować potencjalne działanie adaptogenne intraktu z owoców eleuterokoka. Poza tym modulacja przeznabłonkowego potencjału elektrycznego może mieć wpływ na procesy związane z transportem jonów przez błonę jelita. Celem potwierdzenia uzyskanych wyników niezbędne są dalsze badania na zwierzętach doświadczalnych, z uwzględnieniem parametrów toksykologicznych.

Dr n. farm. Loretta Pobłocka-Olech, prof. dr hab. n. farm. Mirosława Krauze-Baranowska

4. Ocena aktywności przeciwutleniającej i przeciwzapalnej liści wybranych gatunków topoli

Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp. Liście topoli *Populus* są tradycyjnie stosowane w leczeniu reumatyzmu i stanów zapalnych gruczołu krokowego. Główne grupy związków biologicznie aktywnych surowca stanowią flawonoidy i kwasy fenolowe obok salicyny i jej pochodnych estrowych. Celem pracy była optymalizacja rozdzielania za pomocą TLC poli- i prostych fenoli obecnych w liściach 11 gatunków i odmian topoli zebranych w Gdańsku oraz ocena ich aktywności przeciwzapalnej przy użyciu testów bioautograficznych TLC i analiz spektrofotometrycznych.

Materiał i metody. Rozdział chromatograficzny ekstraktów metanolowych z liści topoli badano metodą jedno- i dwukierunkowej chromatografii cienkowarstwowej (1D- i 2D-TLC). Separację 2D-TLC prowadzono na płytkach pokrytych żelazem krzemionkowym (10 × 10 cm), stosując jako fazę ruchomą kwas mrówkowy/wodę/keton metylo-etylowy/octan etylu (1:1:3:5, v/v/v/v) w jednym kierunku i mieszaninę chloroform/metanol/

woda/kwas mrówkowy 70:30:2:2 (v/v/v/v) w drugim kierunku. Aktywność przeciwutleniającą i przeciwzapalną badano, stosując testy bioautografii TLC (DPPH, ryboflawina-NBT, hamowania oksydazy ksantynowej) oraz przy użyciu oznaczeń spektrofotometrycznych (DPPH, FRAP, ABTS).

Wyniki. Wykazano różnice w składzie chemicznym i aktywności przeciwutleniającej liści pochodzących z różnych gatunków topoli. Na podstawie wstępnej analizy profili chromatograficznych polifenoli i aktywności przeciwrodnikowej (test DPPH) ekstraktów z liści topoli do dalszych badań przeznaczono materiał z gatunków: *Populus alba*, *P. nigra*, *P. candicans* i *P. tremula*. Stwierdzono obecność związków o aktywności przeciwutleniającej w teście autobiografii TLC z wykorzystaniem ryboflawiny oraz aktywności przeciwzapalnej w teście hamowania oksydazy ksantynowej w liściach *Populus nigra*, *P. alba* i *P. candicans*. Wśród substancji biologicznie aktywnych zidentyfikowano rutynę, izokwercytrynę, cynarozyd i kwas chlorogenowy w materiale z *P. nigra*, rutynę i kwas chlorogenowy w *P. alba* oraz izokwercytrynę i kwas chlorogenowy w *P. candicans*. Najwyższą aktywność przeciwutleniającą we wszystkich zastosowanych testach spektrofotometrycznych wykazywały liście *P. nigra* – DPPH (0,91 mmol troloksu/g s.m.), ABTS (2,51 mmol troloksu/g s.m.) i FRAP (6,36 mmol troloksu/g s.m.).

Wnioski. Scharakteryzowano aktywność przeciwutleniającą i przeciwzapalną liści pochodzących z różnych gatunków i odmian topoli. Najwyższy potencjał przeciwutleniający wykazywały liście pochodzące z gatunków *P. nigra*, *P. alba* i *P. candicans*.

dr n. farm. Aleksandra Radwańska², prof. dr hab. n. farm. Antoni Nasal²

5. Ocena aktywności przeciwzapalnej owoców niektórych odmian *Rubus idaeus* i *Rubus occidentalis*

¹Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Zakład Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp. Owoce maliny czerwonej (*Rubus idaeus* L., *Rosaceae*) są znanym w medycynie ludowej remedium o działaniu przeciwprzebiegniowym. W Polsce gatunek jest uprawiany w wielu odmianach. Natomiast inny gatunek maliny, pochodzący z Ameryki Północnej – malina czarna (*Rubus occidentalis* L.) – spotykany jest w Polsce jedynie w dwóch odmianach, w tym jako odmiana Litacz. Owoce maliny są źródłem antocyjanów – pochodnych cyjanidyny i elagotanin o potwierdzonej aktywności przeciwutleniającej i przeciwzapalnej. Cyjanidyna spośród innych antocyjanów wyróżnia się najsilniejszą aktywnością przeciwzapalną i przeciwutleniającą. Skład chemiczny oraz działanie lecznicze odmiany Litacz nie były wcześniej rozpoznane. Celem badań była ocena w warunkach *in vivo* aktywności przeciwzapalnej owoców wybranych odmian uprawowych maliny czerwonej i maliny czarnej.

Materiał i metody. Analizę jakościową i ilościową związków biologicznie aktywnych z badanych owoców maliny czerwonej odmian: Ljulin, Polesie, Poranna Rosa i Veten oraz maliny czarnej odmiany Litacz przeprowadzono metodą HPLC-DAD-ESI/MS. W badaniach farmakologicznych zastosowano metodę pletyzmometryczną pomiaru obrzęku łapy szczura wywołanego karageniną. Jako substancję porównawczą zastosowano indometacynę. Do badań przygotowano ekstrakty otrzymane metodą sonikacji z użyciem mieszaniny etanol: woda (80:20, v/v). W analizie statystycznej wykorzystano test U Manna-Whitneya.

Wyniki. Ekstrakt z owoców *R. occidentalis* Litacz w dawce 500 mg/kg m.c. wykazywał najsilniejszą aktywność przeciwzapalną (hamowanie obrzęku łapy szczura wynosiło 54,88% po 1 godz. od podania karageniny, w porównaniu do indometacyny – 39,56%). Wraz ze wzrostem dawki podwyższała się aktywność przeciwzapalna ekstraktu, z wyjątkiem dawki 1000 mg/kg m.c. szczura, która po 1 godz. od podania malała i wynosiła tylko 23,68%. Natomiast obserwowano jej wzrost (zahamowanie na poziomie 55% po 5 godz. od podania). Ekstrakt z owoców *R. occidentalis* Litacz charakteryzował się najwyższą zawartością antocyjanów (5511,89 mg/100 g s.m.).

Wnioski. Owoce polskiej odmiany *R. occidentalis* Litacz okazały się bogatym źródłem związków o działaniu przeciwzapalnym, w tym triglikozydów cyjanidyny. Ich powolna hydroliza do aglikonu – cyjanidyny, decyduje prawdopodobnie o wydłużonym efekcie przeciwzapalnym.

*Prof. dr hab. n. med. Andrzej M. Fal^{1, 2}, dr n. farm. Frank Conrad³,
dr n. med. Karina Schönknecht⁴, dr n. farm. Hartwig Sievers³, mgr farm. Anna Pawińska⁴*

6. Przeciwwirusowa aktywność VBF (czynnika blokującego wirusy) otrzymanego z ekstraktu z pelargonii i soku z bzu czarnego w badaniach *in vitro* wobec wybranych wirusów powodujących przeziębienia u człowieka

¹Zakład Ekonomiki i Organizacji Ochrony Zdrowia, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowo Zakład Higieny, Warszawa

²Katedra Zdrowia Publicznego, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

³PhytoLab GmbH & Co. KG, Vestenbergsgreuth, Niemcy

⁴Phytofarm Klęka S.A., Nowe Miasto nad Wartą

Wstęp. Celem pracy było zbadanie w warunkach *in vitro* aktywności przeciwwirusowej czynnika VBF (ang. *virus blocking factor* – czynnik blokujący wirusy) przeciw wirusom ludzkim odpowiedzialnym za wywoływanie zakażeń dróg oddechowych: *Influenza A H1N1* (FluA H1N1), *Rhinovirus B* podtyp 14 (HRV14), *Respiratory Syncytial Virus* (RSV), *Parainfluenza virus* podtyp 3 (Para 3) i *Adenovirus C* podtyp 5 (Adeno 5). VBF zawiera: ekstrakt z korzenia pelargonii afrykańskiej, sok z owoców bzu czarnego, beta-glukan 1,3/1,6, glukonian cynku oraz kwas askorbinowy.

Materiał i metody. Niecytotoksyczne stężenia VBF uprzednio określone w teście MTT lub jego kontrole (kontrola VBF) dodawano do zakażonych odpowiednim wirusem hodowli komórek MDCK, HeLa lub HEP-2. Jako kontrole dodatkowo służyły rybawiryne (Virazol), a w przypadku adenowirusa – własny standard laboratorium. Aktywność przeciwwirusową oceniano za pomocą testu PRA (Plaque Reduction Assay).

Wyniki. VBF w stężeniach 2,5 i 1,25% wykazywał silne działanie przeciwwirusowe wobec FluH1N1 i HRV14, gdzie doszło do niemal całkowitego zablokowania ich replikacji. Stwierdzono także dawkozależne działanie wobec wirusa RSV w zakresie stężeń 1,25-0,63% oraz mierny wpływ stężenia 1,25% na komórki Hep-2 zakażone wirusem Para 3. W przypadku wirusa Adeno 5 nie stwierdzono działania przeciwwirusowego w zakresie stosowanych stężeń VBF. W przypadku kontroli VBF nie wykazano efektu cytotoksycznego ani przeciwwirusowego.

Wnioski. VBF jest istotnym czynnikiem przeciwwirusowym, hamującym szczególnie replikację wirusów FluA H1N1 i HRV14 oraz RSV.

*Dr n. biol. Katarzyna Gawęł-Bęben, dr n. med. Beata Antosiewicz,
mgr inż. Marcelina Strzępek, prof. dr hab. n. farm. Kazimierz Głowniak*

7. Skuteczność i bezpieczeństwo naturalnych składników kosmetyków redukujących przebarwienia skórne

Katedra Kosmetologii, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania, Rzeszów

Przebarwienia skórne (hiperpigmentacje) to dość powszechny problem estetyczny objawiający się nierównomiernym lub nadmiernym gromadzeniem melaniny w skórze. Przyczynami powstawania hiperpigmentacji są m.in.: nadmierna ekspozycja na promieniowanie UV, zaburzenia hormonalne, stany zapalne, reakcje fototoksyczne oraz przyjmowanie niektórych leków. Szacunkowe dane pokazują, że hiperpigmentacje mogą dotyczyć nawet 90% populacji europejskiej, powodując stres psychiczny i obniżając jakość życia. Szacuje się, że ok. 15% światowej populacji inwestuje w kosmetyki rozjaśniające skórę, a globalny rynek tego typu kosmetyków osiągnie kwotę 32,1 mld USD do 2024 roku. Głównym celem substancji redukujących przebarwienia skórne jest tyrozynaza (EC 1.14.14.1), metaloenzym katalizujący dwie pierwsze reakcje procesu melanogenezy, ograniczające tempo jej przebiegu – przekształcenie L-tyrozyny do L-DOPA, a następnie do dopachinonu. Kwas kojowy i arbutyna to przykłady kompetencyjnych inhibitorów tyrozynazy pozyskiwanych z naturalnych źródeł, które są powszechnie stosowane w kosmetykach rozjaśniających. Ze względu na ich niską skuteczność *in vivo*, niestabilność w recepturach kosmetycznych oraz możliwość wystąpienia

licznych efektów niepożądanych, istnieje ciągła potrzeba poszukiwania innowacyjnych składników aktywnych kosmetyków zapobiegających i redukujących przebarwienia.

Interesującym źródłem skutecznych i bezpiecznych substancji o działaniu rozjaśniającym przebarwienia są ekstrakty roślinne. Świadczy o tym rosnąca liczba publikacji naukowych na ten temat. Efektywność działania tych składników oceniana i porównywana jest za pomocą różnorodnych, niedawno opracowanych metod *in vitro*, które charakteryzują się większą dokładnością i wiarygodnością niż powszechnie wykorzystywana metoda z tyrozynazą grzybową. Do metod tych zaliczamy: analizę syntezy i wydzielania melaniny z mysiej linii komórek czerniaka B16F10 lub ludzkich embrionalnych melanocytów (ang. *human embryonic melanocytes* – HEM) oraz zastosowanie modeli 3D naskórka odpowiadających różnym fototypom skóry. W pracy zostały przeanalizowane zalety i wady poszczególnych metod. Przedstawiono również przykłady nowych ekstraktów i substancji o działaniu rozjaśniającym skórę, a ich skuteczność została porównana z obecnie stosowanymi naturalnymi składnikami kosmetyków redukujących przebarwienia skórne. Zaprezentowano także zalety stosowania ekstraktów roślinnych zamiast pojedynczych substancji w recepturach kosmetyków rozjaśniających.

SESJA Nr 3B

Hodowle *in vitro* jako źródło aktywnych biologicznie metabolitów wtórnych

Dr n. farm. Ewa Kochan¹, dr n. farm. Grażyna Szymańska¹, dr hab. n. med. Monika Sienkiewicz²

1. Wytwarzanie saponin triterpenowych w korzeniach transformowanych żeń-szenia pięciolistnego pod wpływem elicytacji

¹Zakład Biotechnologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp. Hodowle korzeni transformowanych, gatunków leczniczych rzadko występujących lub których uprawa jest trudna i kosztowna, mogą stać się alternatywnym źródłem pozyskania cennych metabolitów wtórnych. Przykładem tego typu rośliny jest żeń-szeń pięciolistny (*Panax quinquefolium*), drugi najbardziej ceniony obok żeń-szenia właściwego (*P. ginseng*), gatunek z rodzaju *Panax*. Zawiera on saponiny triterpenowe – ginsenydy (pochodne protopanaxadiolu i protopanaxatriolu) o wielokierunkowym działaniu farmakologicznym. Jednym z zabiegów zwiększających wytwarzanie związków biologicznie aktywnych w hodowlach *in vitro* jest elicytacja. Obok powszechnie stosowanych elicytorów, poszukuje się nowych związków, które efektywnie intensyfikowałyby wydajność biosyntezy metabolitów wtórnych o właściwościach leczniczych.

Materiał i metody. Materiałem do badań były hodowle korzeni transformowanych, prowadzone na zmodyfikowanym podłożu Gamborga z dodatkiem różnych elicytorów: jasmonianu metylu, ekstraktu drożdżowego i wybranych składników olejkowych: trans-anetolu i linalolu. Oznaczenia 6 związków biologicznie aktywnych (saponiny: Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rg1, Re) wykonano przy użyciu metody HPLC.

Wyniki. Najwyższą całkowitą zawartość ginsenozydów, wyrażoną jako suma badanych związków, odnotowano po zastosowaniu trans-anetolu i jasmonianu metylu (odpowiednio 27,79 i 27,33 mg/g s.m.). Uzyskany poziom był około 2,5-krotnie wyższy w porównaniu do prób nieelicytowanych. Wydajność biosyntezy saponin pod wpływem ekstraktu drożdżowego i linalolu była niższa i wyniosła odpowiednio 20,78 i 18,58 mg/g s.m. Analiza poszczególnych metabolitów wykazała, że wszystkie elicytory w odpowiednim stężeniu efektywnie wzmagają ich gromadzenie się w hodowlach. Wytwarzanie pochodnych protopanaxadiolu było intensyfikowane przez inne stężenia elicytorów niż w przypadku pochodnych protopanaxatriolu. Obserwacje te były niezależne od rodzaju użytego elicytora.

Wnioski. Stymulacja biosyntezy ginsenozydów w hodowlach korzeni transformowanych żeń-szenia *P. quinquefolium* zachodzi zarówno po zastosowaniu tradycyjnych elicytorów, jak i użytych po raz pierwszy do tego

celu składników olejkowych, tj. trans-anetolu i linalolu. Najwyższy poziom badanych metabolitów, wyrażony jako suma poszczególnych saponin, oznaczono po użyciu jasmonianu metylu i trans-anetolu. Dynamika zmian zawartości poszczególnych ginsenozydów zależała od rodzaju i stężenia stosowanego elicytora.

*Dr hab. n. farm. Agnieszka Szopa, dr n. farm. Inga Kwiecień, mgr farm. Paweł Kubica,
mgr Beata Kawka, mgr Marta Klimek-Szczykutowicz, mgr Karolina Jaferniki,
prof. dr hab. n. farm. Halina Ekiert*

2. Hodowle *in vitro* gatunków z rodzajów *Aronia*, *Schisandra* i *Scutellaria* jako bogate źródło przeciwutleniaczy

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum, Kraków

Wstęp. Gatunki z rodzajów: *Aronia*, *Schisandra* i *Scutellaria* są znanym źródłem przeciwutleniaczy, m.in.: kwasów fenolowych, flawonoidów, glikozydów fenylopropanoidowych i lignanów. Hodowle *in vitro* tych gatunków mogą być zatem cennym źródłem związków biologicznie aktywnych. Celem badań była optymalizacja warunków hodowli *in vitro* sprzyjających wytwarzaniu substancji przeciwutleniających.

Materiał i metody. W hodowlach *in vitro* łącznie 9 gatunków i jednej odmiany hodowlanej badano podstawowy skład podłoża, regulatory wzrostu i rozwoju roślin (cytokininy i auksyny), dodatek prekursorów biosyntetycznych, typy hodowli (stałe, wytrząsane, bioreaktorowe) oraz warunki świetlne (światło monochromatyczne i białe). W metanolowych ekstraktach z biomas tych hodowli zawartość przeciwutleniaczy oznaczano metodami HPLC i UHPLC-MS/MS.

Wyniki. Maksymalne całkowite zawartości kwasów fenolowych uzyskane w hodowlach *in vitro* *Aronia melanocarpa*, *A. arbutifolia* i *A. x prunifolia* były bardzo wysokie, wynoszące odpowiednio: 989,79; 1098,46 i 1615,18 mg%. Najwyższe zawartości lignanów oznaczone w hodowlach *in vitro* *Schisandra chinensis*, *S. chinensis* cv. Sadova, *S. henryi* i *S. rubriflora* były następujące: 546,98; 490,25; 873,71 i 250,92 mg%. Z kolei interesujące z praktycznego punktu widzenia ilości swoiste dla rodzaju *Scutellaria* flawonoidów udokumentowano w hodowlach *in vitro* dla *Scutellaria baicalensis* (maks. 638,97 mg%), *S. lateriflora* (maks. 2930,12 mg%) i *S. subvelutina* (maks. 1462,55 mg%). Ponadto w hodowlach *S. baicalensis* potwierdzono wysokie zawartości werbaskozydu (maks. 2369,44 mg%).

Wnioski. Uzyskane wyniki wyraźnie udowodniły, że badane hodowle *in vitro* będące bogatym źródłem przeciwutleniaczy mogą stanowić dobrą alternatywę dla surowców pozyskiwanych z roślin gruntowych.

SESJA Nr 4

Fitoterapia wobec aktualnych zagadnień naukowo-klinicznych

Dr hab. n. med. Jarosław Woron^{1,2}

1. Leki roślinne w polifarmakoterapii i ich interakcje z lekami syntetycznymi

¹*Szpital Uniwersytecki w Krakowie*

²*Zakład Farmakologii Klinicznej, Katedra Farmakologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum, Kraków*

Podobnie do interakcji leków syntetycznych, interakcje leków roślinnych z lekami syntetycznymi mogą przebiegać na drodze interakcji farmakodynamicznych lub farmakokinetycznych. Interakcje farmakodynamiczne mogą nastąpić wówczas, gdy lek roślinny i lek syntetyczny wykazują te same lub

przeciwne działania farmakologiczne lub działania niepożądane. Tego typu interakcje łatwo przewidzieć na podstawie znajomości farmakologii leków wchodzących w reakcje. Trudniejsze do przewidzenia są interakcje farmakokinetyczne, które mogą wystąpić, kiedy lek roślinny wpływa na wchłanianie, dystrybucję, metabolizm lub wydalanie leku syntetycznego. Warto pamiętać, że leki roślinne mogą wpływać zarówno na aktywność izoenzymów cytochromu P450 (CYP), jak i na mechanizmy farmakokinetyczne związane z interakcjami na poziomie P – glikoproteiny (P-gp). Interakcje z udziałem leków roślinnych w polifarmakoterapii mogą być przyczyną powikłań, w tym ciężkich, które niekiedy kończą się hospitalizacją, a nawet zgonem. W tabeli przedstawiono leki roślinne, które w praktyce klinicznej są częstą przyczyną wystąpienia powikłań.

Lek (surowiec roślinny)	Lek lub grupa leków syntetycznych, które mogą wchodzić w interakcje z lekami roślinnymi	Konsekwencje kliniczne interakcji
Miłorząb japoński	leki przeciwplatekcyjne, przeciwzakrzepowe, nicergolina, NLPZ	wzrost ryzyka krwawień, w tym do ośrodkowego układu nerwowego
Żeń-szeń	leki przeciwplatekcyjne, przeciwzakrzepowe, nicergolina, NLPZ, leki przeciwcukrzycowe	wzrost ryzyka krwawień, hipoglikemia
Różeniec górski	leki przeciwdepresyjne, głównie SSRI, warfaryna	wzrost ryzyka krwawień, nasilenie przekąźnictwa serotoninergericznego, zespół serotoninowy
Ostropest plamisty	liczne leki metabolizowane przez CYP 2D6, 3A4, 2C9	interakcje z wieloma lekami stosowanymi powszechnie w polifarmakoterapii, objawy niepożądane o różnym obrazie klinicznym
Dziurawiec zwyczajny	induktor CYP3A4	zmniejszenie skuteczności terapeutycznej różnych grup leków
Ostryż długi (kurkumina)	inhibitor 3A4, 1A2, 2C9, 2C19, 2B6	interakcje z wieloma lekami stosowanymi powszechnie w polifarmakoterapii, objawy niepożądane o różnym obrazie klinicznym

Prof. dr hab. n. farm. Irena Matławska

2. Rola epigenetyki w racjonalnej fitoterapii

Wyższa Szkoła Edukacji i Terapii im. prof. Kazimierzy Milanowskiej, Poznań

Fitoterapia jest najstarszym działem medycyny, wykorzystuje rośliny lecznicze i preparaty zawierające przetwory roślinne w profilaktyce i terapii chorób, czerpiąc wiedzę z wielu tradycji i systemów medycznych. Jako pierwszy terminu „fitoterapia” użył francuski lekarz H. Leclerc w 1913 roku. Określenie „racjonalna fitoterapia” pojawiło się w 1996 roku w tytule podręcznika autorstwa V. Schulza i R. Hänsela. Opiera się ono na wynikach badań składu i aktywności surowców oraz preparatów roślinnych. Aktualnie obserwujemy znaczny wzrost publikacji z zakresu badań klinicznych roślin leczniczych, a wyodrębnienie artemizyniny o działaniu przeciwmalarycznym z ziela bylicy rocznej przez Y.Y. To zostało uhonorowane Nagrodą Nobla w 2015 roku. Synergistyczne oddziaływanie pomiędzy związkami obecnymi w ziołach, co udokumentowano naukowo, warunkuje ich aktywność i skuteczność.

Zainteresowanie preparatami roślinnymi rośnie na całym świecie, co związane jest z możliwością ich stosowania z odpowiednią dietą w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym, a nawet zastępowaniu lub ograniczaniu leków syntetycznych, szczególnie w chorobach przewlekłych. Są one na ogół bezpieczne w stosowaniu, wykazują łagodne działanie, mają niską toksyczność, rzadko powodują działania niepożądane i mogą być przyjmowane długoterminowo, niekiedy klasyfikowane jako żywność. Produkcja nowoczesnych postaci leków z ekstraktów roślinnych jest zdecydowanie trudniejsza niż z czystych substancji chemicznych, a stosowanie wyizolowanych związków roślinnych nie jest fitoterapią.

Wyjaśnienie aktywności biologicznej roślin i ekstraktów roślinnych może dostarczyć epigenetyka, nauka dotycząca regulacji aktywności genów. Geny tylko w 20% decydują o funkcjonowaniu naszego organizmu, pozostała część to oddziaływanie środowiska zewnętrznego, w tym diety. Dla przykładu struktury białkowe mleczka pszczelego wpływają na różnicowanie się epigenetyczne pszczół na matki pszczoły zdolne do rozrodu i robotnice. Podstawowe mechanizmy molekularne zjawisk epigenetycznych to: odwracalna metylacja DNA, modyfikacja histonów (np. metylacja, acetylacja, fosforylacja i in.) oraz interferencja RNA (RNAi). Mechanizmy epigenetyczne obejmują wpływ (głównie hamujący) na metylotransferazy DNA, enzymy modyfikujące histony, np. deacetylazy i acetylotransferazy histonowe, metylotransferazy argininowe, metylotransferazy i demetylazy histonowe.

W mechanizmach tych uczestniczą substancje roślinne obecne w naszej diecie i roślinach leczniczych, m.in.: kwercetyna, apigenina, kemferol, luteolina, genisteina, kwas kawowy i chlorogenowy, likopen, elagotaniny, indolo-3-karbinol, sulforafan, galusan epigalokatechiny (EGCG), kurkumina, kwas foliowy i ursolowy. Testy epigenetyczne wykazały swoisty wpływ na ekspresję genów całego zespołu, a nie poszczególnych roślin w preparacie Phytodolor[®], który zmniejszył wzrost ekspresji genu prozapalnego, białka COX-2 i TNF- α w aktywowanych monocytach. Można przyjąć, że rozpoczyna się rozwój nowej klasy leków (leki epigenetyczne – epidrugs), ukierunkowanych na leczenie zaburzeń metabolicznych (cukrzyca, otyłość), a także nowotworów i chorób neurodegeneracyjnych.