



Autoreferat

dr inż. Sylwia Cyboran-Mikołajczyk

Katedra Fizyki i Biofizyki,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Spis treści

1. Dane osobowe.....	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne.....	2
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu.....	2
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z 2018 r.	
4.1 Osiągnięcie naukowe	2
4.1.1. Tytuł osiągnięcia.....	2
4.1.2. Prace wchodzące w skład osiągnięcia.....	3
4.1.3. Omówienie celu osiągnięcia naukowego.....	4
4.2 Dodatkowe osiągnięcia naukowe.....	15
4.3 Literatura.....	19
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	
5.1 Aktywność naukowa w jednostkach zagranicznych.....	22
5.2 Aktywność naukowa w innych jednostkach.....	23
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.	
6.1 Osiągnięcia dydaktyczne.....	24
6.2 Osiągnięcia organizacyjne.....	25
6.3 Osiągnięcia popularyzujące naukę lub sztukę.....	25
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.	
7.1 Podsumowanie dorobku naukowego.....	26
7.2 Nagrody za działalność naukową i organizacyjną.....	26

1. Imię i nazwisko.

Sylwia Cyboran-Mikołajczyk

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

Rok	Stopień naukowy	Podmiot nadający	Temat osiągnięcia	Promotor
2014	doktor nauk biologicznych*, dyscyplina: biofizyka	Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki	„Aktywność biologiczna ekstraktów z liści w odniesieniu do błon biologicznych i modeli lipidowych błon”	prof. dr hab. Halina Kleszczyńska
2011	- (studia podyplomowe)	Wydział Zarządzania i Finansów, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu	„Analiza sprawozdania finansowego spółki giełdowej z sektora farmaceutycznego”	prof. dr. hab. Edward Nowak
2008	magister inżynier fizyki technicznej, specjalność: inżynieria biomedyczna specjalizacja: aparatura elektromedyczna	Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska	„Przegląd zastosowań robotów w technice medycznej”	doc. dr inż. Hanka Karkowska

* dyplom potwierdzający uzyskanie stopnia doktora stanowi załącznik nr 2.

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

okres zatrudnienia	stanowisko	Jednostka
od 09.03.2014 ^{*,**}	adiunkt (pełny etat)	Katedra Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu
01.10–31.12.2014	asystent naukowy (½ etatu)	Instytut Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego
09.03.2009 - 08.03.2014	asystent naukowo-dydaktyczny (pełny etat)	Katedra Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

* w latach 2018-2020 - 17 miesięczna przerwa w działalności zawodowej związana z długotrwałym zwolnieniem lekarskim w ciąży i urlopem macierzyńskim,

** w latach 2021-2022 - 14 miesięczna przerwa w działalności zawodowej związana ze zwolnieniem lekarskim w ciąży i urlopem macierzyńskim,

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.**4.1 Osiągnięcia naukowe****4.1.1 Tytuł osiągnięcia naukowego**

„Skutki oddziaływania ekstraktów z liści roślin alimentacyjnych oraz procyjanidyn i cyjanidyn z błonami biologicznymi oraz wybranymi komórkami układu krążenia”

4.1.2 Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe pt. „*Skutki oddziaływania ekstraktów z liści roślin alimentacyjnych oraz procyjanidyn i cyjanidyn z błonami biologicznymi oraz wybranymi komórkami układu krążenia*” obejmuje cykl 8 oryginalnych prac naukowych (P1-P8) z listy JCR. W przedstawionych pracach jestem autorem pierwszym i korespondencyjnym. Sumaryczny współczynnik *Impact Factor* (IF) tego cyklu prac wynosi **21.423**, a suma punktów MEiN wynosi **415**. Pracę habilitacyjną tworzy cykl publikacji wydanych w latach 2014-2019, które stanowią *załącznik nr 5*. We wszystkich publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe jestem głównym autorem koncepcji badań, a w publikacjach P2-P8 głównym ich wykonawcą. Uzyskane wyniki badań analizowałam i interpretowałam samodzielnie. Wszystkie prace, które wchodziły w skład mojego osiągnięcia naukowego zostały przeze mnie samodzielnie przygotowane, w postaci manuskryptu. Prace te, po akceptacji współautorów, przesyłałam do redakcji wybranych czasopism. Dokonywałam także korekty tych manuskryptów po recenzji i przed ostateczną ich akceptacją przez wydawnictwo. Odpowiadałam również na uwagi recenzentów prac. Szczegółowy opis mojego wkładu w powstawanie poszczególnych publikacji zamieściłam

w tabeli poniżej. Oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każde-go z nich w powstawanie tych publikacji znajdują się w *załączniku nr 6*.

Symbol	Autorzy	Tytuł	Czasopismo	Rok	IF **	Punkty **	Cytowania ***
P1	Cyboran S*, Bonarska-Kujawa D, Pruchnik H, Żyłka R, Oszmiański J, Kleszczyńska H	Phenolic content and biological activity of extracts of blackcurrant fruit and leaves	<i>Food Research International</i> , 65, A:47-58.	2014	3.466	40 (A)	33 (30)
<p>Mój udział polegał na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań: całkowitej zawartości polifenoli w ekstraktach; stabilności ekstraktów; określających współczynnik podziału oktanol/woda; zmian płynności i uporządkowania błon erytrocytów i liposomów RBCL pod wpływem ekstraktu z liści czarnej porzeczki, których wyniki zamieszczono w paragrafach 3.2 oraz 3.3, tabeli 2 (BCL), oraz na rysunkach 1 i 6 (BCL). Ponadto, mój udział polegał na: analizie uzyskanych danych i interpretacji wyników, porównaniu aktywności ekstraktu z liści z ekstraktem owocowym, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzje, jako autora korespondencyjnego.</p>							
P2	Cyboran S*, Oszmiański J, Kleszczyńska H	Modification of the properties of biological membrane and its protection against oxidation by <i>Actinidia arguta</i> leaf extract	<i>Chemico-biological Interactions</i> , 222:50-59.	2014	2.577	30 (A)	26 (21)
<p>Mój udział polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu wszystkich eksperymentów, z wyjątkiem analizy HPLC tzn. aktywności hemolitycznej i antyoksydacyjnej ekstraktów, fluorymetrycznej oceny zmian płynności i uporządkowania błony, oporności osmotycznej erytrocytów. Wyniki tych badań zamieszczono na rysunkach 1-5 oraz w tabelach 2 i 3. Ponadto, mój udział polegał na analizie danych i interpretacji wyników, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzje, jako autora korespondencyjnego.</p>							
P3	Cyboran-Mikołajczyk S*, Csonka A, Molnar J, Szabo D, Oszmiański J, Kleszczyńska H	<i>In Vitro</i> studies of anti-hemolytic and cytotoxic activity of procyanidin-rich extract from the leaves of <i>Actinidia arguta</i> .	<i>Polish Journal of Food and Nutrition Sciences</i> , 68 (2): 171-177.	2018	1.514	15 (A)	8 (8)
<p>Mój udział polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń w odniesieniu do erytrocytów tzn. spektrofotometrycznej oceny aktywności anty-hemolitycznej oraz zdolności ekstraktu do modyfikacji kształtów erytrocytów, których wyniki zamieszczono na rysunkach 1-3; analizie i interpretacji wyników, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzje, jako autora korespondencyjnego.</p>							
P4	Cyboran-Mikołajczyk S*, Żyłka R, Jurkiewicz P, Pruchnik H, Oszmiański J, Hof M	Interaction of procyanidin B3 with membrane lipids - Fluorescence, DSC and FTIR studies.	<i>Biochimica et Biophysica Acta Biomembrane</i> , 1859: 1362-1371.	2017	3.498	35 (A)	10 (10)
<p>Mój udział polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu wszystkich eksperymentów z wyjątkiem badań DSC tzn. badań fluorymetrycznych metodą stacjonarną i czasowo-zależną, metodą spektroskopii FTIR, których wyniki zamieszczono na rysunkach 2,4,5 i 6 oraz w tabelach 1 i 3. Ponadto, mój udział polegał na: analizie danych i interpretacji wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzje, jako autora korespondencyjnego.</p>							

P5	Cyboran S* , Strugała P, Włoch A, Oszmiański J, Kleszczyńska H	Concentrated green tea supplement: Biological activity and molecular mechanisms.	<i>Life Sciences</i> , 126: 1-9.	2015	2.296	25 (A)	30 (26)	
Mój udział polegał na: zaplanowaniu wszystkich doświadczeń, przeprowadzeniu badań: całkowitej zawartości związków polifenolowych, inhibicji utleniania lipidów przez badane substancje, oraz fluorymetrycznych badań płynności i uporządkowania błony, których wyniki zamieszczono na rysunkach 2 i 4 oraz w tabeli 1. Ponadto, mój udział polegał na: analizie danych i interpretacji wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu manuskryptu i odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego.								
P6	Cyboran-Mikołajczyk S* , Kleszczyńska H, Oszmiański J, Pasławski R	<i>Allium Ursinum L.</i> leaves components modified the physico-chemical properties of red blood cells protecting them from the effects of oxidative stress.	<i>Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research</i> , 76 (3): 483-491.	2019	0.456	100	4 (4)	
Mój udział polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu wszystkich doświadczeń tzn. aktywności hemolitycznej i anty-hemolitycznej ekstraktu, aktywności antyoksydacyjnej w odniesieniu do błony erytrocytów, wpływu ekstraktu na: oporność osmotyczną erytrocytów, płynność i uporządkowanie oraz potencjał błony erytrocytów, których wyniki zamieszczono na rysunkach 1-2 oraz w tabeli 1. Ponadto, mój udział polegał na: analizie danych i interpretacji wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu manuskryptu i odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego.								
P7	Cyboran-Mikołajczyk S* , Jurkiewicz P, Hof M, Kleszczyńska H	The Impact of <i>O</i> -glycosylation on cyanidin interaction with POPC membranes: structure-activity relationship.	<i>Molecules</i> , 23(11), 2771;	2018	3.06	30 (A)	8 (8)	
Mój udział polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu wszystkich doświadczeń tzn. wpływu związków na właściwości fizyczne błony POPC metodą fluorymetryczną oraz dynamicznego i elektroforetycznego rozpraszania światła, ocena aktywności antyoksydacyjnej związków, których wyniki zamieszczono na rysunkach 1-5. Ponadto, mój udział polegał na: analizie danych i interpretacji wyników, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu i odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego, pozyskaniu środków na badania.								
P8	Cyboran-Mikołajczyk S* , Solarska-Ściuk K, Mieszala K, Glatzel-Plucińska N, Matczak K, Kleszczyńska H	The impact of <i>O</i> -glycosylation on cyanidin interaction with RBCs and HMEC-1 cells- structure-activity relationships.	<i>International Journal of Molecular Sciences</i> , 20, 1928,	2019	4.556	140	5 (4)	
Mój udział polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu wszystkich doświadczeń na erytrocytach tzn. aktywności hemolitycznej i antyoksydacyjnej związków oraz ich wpływu na kształty i oporność osmotyczną erytrocytów; współprowadzeniu hodowli komórkowej i wykonaniu testów z użyciem sondy H2DCFDA w warunkach indukowanego stresu oksydacyjnego, przygotowaniu próbek do badań cytometrycznych. Wyniki tych badań zamieszczono na rysunkach 2C, 3 i 4. Ponadto, mój udział polegał na: analizie danych i interpretacji wyników, a także napisaniu manuskryptu i odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego, pozyskaniu środków na badania.								
					Suma	21.423	415	124 (111)

* autor korespondencyjny

** *Impact Factor* oraz liczbę punktów ministerialnych za publikację w czasopiśmie podano w roku ukazania się pracy

*** liczba cytowań według bazy Scopus na dzień 01.04.2023, w nawiasie podano liczbę cytowań bez autocytaowań

4.1.3 Omówienie celu osiągnięcia naukowego

Związki polifenolowe są wtórnymi metabolitami roślin o udokumentowanej aktywności biologicznej, w szczególności aktywności antyoksydacyjnej, która ma ogromne znaczenie w zapobieganiu i leczeniu chorób cywilizacyjnych wynikających z zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w organizmie. Głównym źródłem substancji polifenolowych w diecie są owoce i warzywa, zatem związkom w nich zawartym poświęca się najwięcej uwagi. Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują, że liście różnych roślin są bogatym źródłem tych substancji, są one jednak znacznie mniej popularne i wykorzystywane, ze względu na brak możliwości ich bezpośredniego spożycia w przeciwieństwie do owoców. Badania przeprowadzone w ramach mojej pracy doktorskiej wykazały, że ekstrakty polifenolowe z liści drzew i krzewów owocowych popularnie uprawianych w Polsce, wykazują wysoką aktywność antyoksydacyjną, przy braku działań ubocznych na układy biologiczne¹⁻³. Związki w nich zawarte, skutecznie chronią lipidy błonowe przed oksydacyjnym uszkodzeniem indukowanym różnymi czynnikami fizykochemicznymi. Ponadto, określenie skutków ich oddziaływania

z błonami biologicznymi oraz modelowymi błonami lipidowymi, pozwoliło na wyjaśnienie molekularnego

mechanizmu odpowiedzialnego za tą aktywność. Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono, że związki zawarte w ekstraktach z liści wiążą się z obszarem główek polarnych lipidów błonowych, tworząc na powierzchni błony barierę ograniczającą wnikanie wolnych rodników do jej wnętrza. W badaniach tych, wykazano również, że potencjał antyoksydacyjny ekstraktów z liści zależy zarówno od ilości jak i rodzaju związków zawartych w ekstraktach, oraz że może on być zbliżony a nawet wyższy od potencjału określonego dla ekstraktów polifenolowych z owoców rozpatrywanej rośliny. Dlatego też, konieczne jest kontynuowanie badań nad aktywnością biologiczną związków zawartych w liściach, w celu ich potencjalnego wykorzystania w ochronie i leczeniu organizmów. Dodatkowo, szczegółowe określenie skutków ich oddziaływania z podstawowymi strukturami biologicznymi przyczyni się do ukierunkowania badań nad ich aktywnością biologiczną w celu wykrycia bardziej specyficznych efektów ich prozdrowotnego działania.

Celem prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (P1-P8) była **ocena aktywności biologicznej ekstraktów polifenolowych z liści wybranych roślin alimentacyjnych oraz cyjanidyn i procyjanidyn, w odniesieniu do błon biologicznych oraz wybranych komórek układu krążenia**, pod kątem ich potencjalnego wykorzystania w ochronie organizmów. Na podstawie przeprowadzonych badań, zarówno ekstrakty z liści jak i pojedyncze związki polifenolowe zostały ocenione jako substancje: 1) wykazujące zdolność do modyfikacji właściwości fizycznych błon biologicznych w wyniku bezpośredniego oddziaływania z fazą lipidową lub białkowo-lipidową błony; 2) charakteryzujące się wysoką zdolnością do zmiatania i neutralizacji wolnych rodników; 3) zmieniające właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne komórek układu krążenia. Na podstawie skutków ich oddziaływania z błonami i komórkami, wyjaśniono prawdopodobny molekularny mechanizm odpowiedzialny za ich aktywność biologiczną oraz zaproponowano potencjalne ich zastosowanie w profilaktyce i ochronie organizmów, w szczególności tych narażonych na stres oksydacyjny.

Badania aktywności biologicznej ekstraktów i związków polifenolowych, zawarte w cyklu prac stanowiących pracę habilitacyjną (P1-P8), przeprowadzono w odniesieniu do modeli błon utworzonych z jednego rodzaju lipidów syntetycznych (POPC, DMPC), mieszaniny lipidów syntetycznych (POPC+POPG, POPC+DOTAP) oraz lipidów wyekstrahowanych z błon biologicznych (erytrocytów). Błony lipidowe traktowano jako jednofazowy, uproszczony model błony komórek eukariotycznych. Ponadto, badania przeprowadzono w odniesieniu do dwóch typów komórek układu krążenia tj. bezjądrzastych erytrocytów oraz jądrzastych komórek śródbłonna naczyń włosowatych skóry (HMEC-1). Erytrocyty i ich błony, łatwo pozyskiwane bez uszkodzenia, traktowano jako przykład i model komórki oraz błony komórkowej. Obiektem badań były erytrocyty pozyskane z krwi świni, ze względu na łatwość pozyskania materiału biologicznego oraz ich skład lipidowy, który jest najbardziej zbliżony do składu lipidowego erytrocytów ludzkich. Krwinki czerwone charakteryzują się silną korelacją pomiędzy ich strukturą a funkcją biologiczną, co czyni je doskonałym modelem do badania interakcji różnych cząsteczek z organizmami na poziomie komórkowym. Dodatkowo, są one również dobrym modelem *in vitro* do badań aktywności antyoksydacyjnej różnych substancji egzogennych, gdyż ze względu na pełnione funkcje transportowe oraz wysoką zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych są szczególnie narażone i wrażliwe na oksydacyjne uszkodzenia¹. Komórki śródbłonna naczyniowego tworzą monowarstwę wyścielającą naczynia krwionośne, a zatem mają bezpośredni kontakt z krwią i krążącymi w niej komórkami, lekami i innymi egzogennymi substancjami. Pełnią one kluczową rolę m.in. w kontrolowaniu lepkości krwi, agregacji płytek krwi i napięcia naczyń. Wszelkie dysfunkcje komórek śródbłonna prowadzą w konsekwencji do rozwoju lub utrwalenia zmian patologicznych w układzie sercowo-naczyniowym². Dodatkowo, poza wyżej wymienionymi komórkami układu krążenia w badaniach wykorzystano również limfocyty T z chłoniaka mysiego wrażliwe oraz odporne na działanie leków (multidrug resistance -MDR).

W zaprezentowanym cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (P1-P8) wykorzystano szereg metod badawczych, które pozwoliły na ocenę: 1) właściwości fizykochemicznych badanych substancji; 2) ilościową i jakościową analizę składu ekstraktów; 3) oraz skutków oddziaływania badanych substancji z układami biologicznymi na poziomie molekularnym i komórkowym.

Badania składu polifenolowego ekstraktów oraz właściwości fizykochemicznych użytych substancji przeprowadzono z wykorzystaniem:

- 1) metod spektrofotometrycznych (przy określaniu współczynnika podziału oktanol/woda, całkowitej zawartości związków polifenolowych i flawonoidów w ekstraktach oraz przy ocenianiu stabilności tych substancji),
- 2) chromatografii ciekowej z tandemową spektroskopią masową (przy określaniu ilościowej i jakościowej zawartości związków polifenolowych w ekstraktach/suplemencie

Do oceny aktywności biologicznej użytych substancji wykorzystano następujące metody:

- 1) spektroskopię UV-VIS (ocena aktywności hemolitycznej i cytotoksycznej użytych substancji, ocena aktywności antyoksydacyjnej i przeciwzapalnej),
- 2) spektroskopię w podczerwieni FTIR (ocena skutków oddziaływania substancji z fazą lipidową błon)
- 3) stacjonarną spektroskopię fluorescencyjną (ocena wpływu związków na: uporządkowanie główek polarnych lipidów, płynność błony, potencjał dipolowy, potencjał transbłonowy erytrocytów, oraz ocena wewnątrzkomórkowego stężenia reaktywnych form tlenu i wpływu związków na żywotność i przeżywalność komórek, a także określenie aktywności antyoksydacyjnej związków),
- 4) czasowo-zależną spektroskopię fluorescencyjną (ocena wpływu związków na uporządkowanie i dynamikę łańcuchów acylowych lipidów oraz uporządkowania i stopnia uwodnienia główek polarnych lipidów),
- 5) różnicową kalorymetrię skaningową (ocena wpływu związków na właściwości termotropowe lipidów),
- 6) dynamiczne i elektroforetyczne rozpraszanie światła (ocena zdolności związków do agregacji pęcherzyków lipidowych i zmian ich potencjału Zeta),
- 7) cytometrię przepływową (badania aktywności użytych substancji do indukcji apoptozy oraz do indukcji zmian w cyklu komórkowym),
- 8) mikroskopię optyczną i elektronową (badanie zdolności związków do modyfikacji kształtów erytrocytów),

1. Polifenolowe wyciągi z liści krzewów owocowych

Badania zawarte w publikacjach P1, P2 oraz P3 stanowią kontynuację, rozpoczętego w ramach mojej pracy doktorskiej tematu badawczego związanego z oceną aktywności biologicznej ekstraktów z liści roślin owocowych, które traktowane są głównie jako odpad biodegradowalny i w zasadzie nie znajdują praktycznego zastosowania. Celem tych badań było wykazanie, że podobnie jak owoce, liście są cennym i niewymagającym dodatkowych nakładów finansowych surowcem do pozyskania substancji o właściwościach prozdrowotnych i/lub leczniczych. Dlatego też, podjęłam badania nad określeniem składu polifenolowego oraz aktywności biologicznej ekstraktów z liści czarnej porzeczki (P1) oraz mini kiwi (P2, P3). Na podstawie skutków ich oddziaływania z błonami biologicznymi i ich modelami lipidowymi oraz komórkami, zaproponowałam prawdopodobny mechanizm odpowiedzialny za ich aktywność biologiczną, na poziomie molekularnym i komórkowym.

Pierwszym przebadanym ekstraktem był wyciąg z liści czarnej porzeczki (*Ribes nigrum L.*), która uprawiana jest na szeroką skalę w Polsce, a wielkość jej uprawy sięga nawet 100-120 tyś. ton rocznie. Drugim źródłem badanego ekstraktu były liście mini kiwi (*Actinidia arguta*), rośliny której wielkość uprawy, ze względu na walory smakowe owoców i właściwości prozdrowotne, z każdym rokiem sukcesywnie wzrasta, a w latach 2015-2016 szacowano ją na ok. 15 tyś. ton rocznie na całym świecie.

1.1 ekstrakt z liści czarnej porzeczki (P1)

Wyniki badań wykonanych w ramach mojej pracy doktorskiej nad ekstraktem z liści czarnej porzeczki wykazały, że związki w nim zawarte modyfikują właściwości fizyczne erytrocytów i ich błon. Ekstrakt ten nie

wykazuje toksycznego działania w odniesieniu do erytrocytów, indukuje zmiany ich kształtu i czyni je bardziej odporne na zmiany ciśnienia osmotycznego w otaczającym je środowisku³. Ponadto, substancje polifenolowe w nim zawarte skutecznie chronią błony erytrocytów przed wolnymi rodnikami, indukowanymi promieniowaniem UVC oraz przed rodnikami alkilowymi, powstałymi w wyniku rozpadu związku AAPH⁴. Ponadto, obecność składników ekstraktu w błonach erytrocytów, narażonych na promieniowanie UVC, chroni je przed niepożądanymi zmianami wywołanymi promieniowaniem. Dodatkowo, analiza widm IR błon erytrocytów zmodyfikowanych ekstraktem, wykazała brak zmian w strukturze białek błonowych, co wskazuje na oddziaływanie składników ekstraktu głównie z fazą lipidową błony erytrocytów⁴. Ponadto, porównanie aktywności biologicznej ekstraktu z liści z ekstraktem z owoców tej rośliny wykazało, że ekstrakty te charakteryzują się zbliżoną zdolnością do zmiatania wolnych rodników, jednak ekstrakt z liści wykazuje znacznie większą zdolność do modyfikacji właściwości fizycznych erytrocytów. Uzyskane w ramach pracy doktorskiej wyniki były inspiracją do podjęcia dodatkowych, bardziej szczegółowych badań nad skutkami oddziaływania ekstraktu z liści z błoną erytrocytów oraz modelem lipidowym błony. W badaniach tych zastosowano prosty jednoskładnikowy model błony, który znacznie ułatwił interpretację wyników i pozwolił na wyjaśnienie molekularnego mechanizmu oddziaływania ekstraktu tylko z fazą lipidową błony. Dlatego też, w pracy P1 zbadano skutki wpływu polifenolowego ekstraktu z liści czarnej porzeczki na modele lipidowe błon, utworzone z DPPC i lipidów wyekstrahowanych z błon erytrocytów (RBCL) oraz z błoną erytrocytów. Otrzymane wyniki badań, pozwoliły na porównanie aktywności ekstraktu z liści z aktywnością ekstraktu z owoców tej rośliny, który znajduje szerokie zastosowanie w ochronie zdrowia. Aktywność biologiczną ekstraktu z liści określono na podstawie zdolności związków w nim zawartych do: 1) modulacji płynności błon oraz uporządkowania główek polarnych lipidów, metodą fluorymetryczną z użyciem znacznika DPH i Laurdan, 2) zmiany temperatury przejścia fazowego lipidów, metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), 3) indukowania zmian uwodnienia błony, metodą spektroskopii w podczerwieni (FTIR), 4) ochrony lipidów przed oksydacyjnym uszkodzeniem indukowanym związkiem AAPH, metodą fluorymetryczną z użyciem sondy TMA-DPH. Ponadto, na podstawie współczynnika podziału oktanol/woda oraz całkowitej zawartości związków polifenolowych (metoda z użyciem odczynnika Folin-Ciocalteu) monitorowanej przez 12 miesięcy określiłam lipofilowość oraz stabilność ekstraktów. Przeprowadzone badania wykazały, że związki zawarte w ekstrakcie z liści posiadają większe powinowactwo do fazy wodnej niż lipidowej i praktycznie nie ulegają degradacji podczas przechowywania w formie liofilizatu, w obniżonej temperaturze (-15°C). Zastosowane w badaniach metody fizyczne udowodniły, że składniki ekstraktu z liści indukują większe zmiany w błonie lipidowej i białkowo-lipidowej niż składniki ekstraktu z owoców, i wykazały że skutki ich oddziaływania mają charakter powierzchniowy i notowany wzrostem nieuporządkowania obszaru główek polarnych lipidów. Jak wykazały badania, składniki ekstraktu tworzą wiązania wodorowe z grupą karbonylową lipidów, ograniczają ruchliwość grupy cholinowej oraz wiążąc wodę, wprowadzają dodatkowe cząsteczki wody do tego obszaru. Nie indukują one przy tym zmian w hydrofobowym obszarze błony, gdyż nie zmieniają płynności błony, temperatury przejścia fazowego lipidów oraz drgań wibracyjnych grup metyloowych i metylenowych łańcuchów węglowodorowych lipidów. Taki charakter oddziaływania z błonami powoduje, że związki zawarte w ekstrakcie mogą skutecznie zmiatać i neutralizować wolne rodniki, znajdujące się w środowisku wodnym, tworząc na powierzchni błony barierę ochronną. Ponadto, udowodniono, że ekstrakt z liści, pomimo dwukrotnie niższej zawartości związków polifenolowych niż ekstrakt owocowy, wykazuje porównywalny lub znacznie lepszy poziom ochrony lipidów błonowych przed utlenieniem, w odniesieniu do użytego modelu błon. Jego aktywność antyoksydacyjna, jest również kilkukrotnie wyższa niż aktywność standardowych przeciwutleniaczy np. kwasu askorbinowego i butylohydroksykortyzolu (BHA).

1.2 ekstrakt z liści mini kiwi (P2 oraz P3)

Actinidia arguta (rodzina *Actinidiaceae*, typ *vine*) powszechnie nazywana mini kiwi, jest rośliną wywodzącą się z północno-wschodnich rejonów Chin. Jej owoce są cennym źródłem witaminy C, luteiny, minerałów oraz związków polifenolowych, które odpowiadają za ich właściwości prozdrowotne m.in. antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe⁵. Do roku 2014, w literaturze naukowej nie opublikowano prac

dotyczących składu polifenolowego oraz aktywności biologicznej ekstraktu z liści tej rośliny. Dlatego też, w publikacji P2, zamieszczono wyniki badań dotyczące szczegółowej analizy zawartości związków polifenolowych w ekstrakcie oraz wyniki badań fizycznych, w których określona została po raz pierwszy aktywność biologiczna ekstraktu z liści mini kiwi w odniesieniu do erytrocytów i ich błon. Ilościową i jakościową analizę zawartości związków polifenolowych przeprowadzono metodami chromatografii cieczerwowej UPLC-DAD oraz UPLC-ESI-MS (P2), które wykazały, że ekstrakt ten jest bogatym źródłem procyjanidyn typu B, kwasów fenolowych, katechin oraz glikozydowanych pochodnych flawonoidów. W pierwszym etapie badań nad aktywnością biologiczną (P2) określony został potencjał antyoksydacyjny ekstraktu w odniesieniu do wolnych rodników indukowanych czynnikami fizykochemicznymi tj. promieniowaniem UVC i UVB oraz związkami AAPH. Aktywność oceniona została na podstawie stopnia inhibicji utlenienia lipidów zawartych w błonie erytrocytów metodami fluorymetryczną i spektrofotometryczną. Badania te wykazały, że związki zawarte w ekstrakcie chronią błony erytrocytów przed oksydacyjnym uszkodzeniem indukowanym przez wszystkie użyte w pracy czynniki. Porównanie aktywności antyoksydacyjnej ekstraktu (stanowiącego mieszaninę różnych związków) z aktywnością jego głównych składników pozwoliło stwierdzić, że potencjał ochronny ekstraktu jest dwukrotnie niższy niż kwasu neochlorogenowego i procyjanidyn (B₂ oraz B₃) oraz ok. pięciokrotnie niższy od potencjału (+) katechiny. Ponadto, uwzględnienie aktywności antyoksydacyjnej pojedynczych składników ekstraktu i ich zawartości w preparacie, wskazało na istotne osłabienie ich aktywności antyoksydacyjnej w obecności innych komponentów. Jest ono prawdopodobnie wynikiem wzajemnego oddziaływania poszczególnych składników w ekstrakcie, w którym poza wyżej wymienionymi związkami znajdują się również glikozydowane pochodne kwercetyny, kempferolu i izoramnetyny. Pochodne te, ze względu na znaczne rozmiary przyłączonych cukrów mogą osłaniać grupy hydroksylowe odpowiedzialne za neutralizację i zmiatanie wolnych rodników. Ponadto, na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że ekstrakt z liści mini kiwi jest skuteczniejszy w ochronie lipidów błonowych przed utlenieniem niż kwas askorbinowy i BHA.

Badania *in vitro* wykazały, że procyjanidyny posiadają aktywność przeciwnowotworową, hamując wzrost różnych typów komórek nowotworowych⁶⁻⁸. Ponadto, mogą one również zmniejszać oporność wielolekową komórek nowotworowych, poprzez modulację aktywności glikoproteiny P, a nawet zwiększać skuteczność leków cytostatycznych, ograniczając ich toksyczne działanie^{7,8}. Dane literaturowe wskazują również, że ekstrakty z owoców mini kiwi wykazują selektywną aktywność cytotoksyczną w odniesieniu do różnych linii komórek nowotworowych, działanie anty-HIV oraz przeciwbakteryjne⁹. Brak jest natomiast informacji na temat aktywności ekstraktu z liści tej rośliny w odniesieniu, zarówno do komórek prawidłowych, jak i nowotworowych, co było inspiracją do kontynuacji badań nad aktywnością biologiczną tego ekstraktu. Dlatego też, w kolejnym etapie badań, po raz pierwszy określono skutki oddziaływania ekstraktu z erytrocytami i ich błonami (P2). Przeprowadzone badania wykazały, że związki zawarte w ekstrakcie, użyte w szerokim zakresie stężeń, nie działają destrukcyjnie na błonę erytrocytów, gdyż nie indukują hemolizy krwinek czerwonych. Testy oporności osmotycznej erytrocytów wykazały, że składniki ekstraktu, w zależności od zastosowanego stężenia, mogą powodować różne skutki, przy niskim stężeniu (0.01 mg/ml) zwiększać wytrzymałość krwinek na zmiany ciśnienia osmotycznego w otaczającym je środowisku, a przy wyższym stężeniu (0.06 mg/ml) osłabiać ją. Jak wykazały badania, składniki ekstraktu działają również anty-hemolitycznie, skutecznie chroniąc krwinki czerwone przed hemolizą indukowaną wolnymi rodnikami (P4). Ponadto, zmieniają kształty erytrocytów, powodując przekształcanie dyskocyty w dyskoehinocyty i echinocyty, co z kolei wskazuje na ich lokalizację w zewnętrznej monowarstwie błony (P4). Następnie, w celu określenia molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za wykazaną aktywność biologiczną ekstraktu oraz ustalenia lokalizacji związków w błonie, przeprowadzono również badania fluorymetryczne z użyciem znaczników Laurdan, TMA-DPH oraz DPH, lokujących się na różnych głębokościach błony erytrocytów (P2). Badania te wykazały, że związki zawarte w ekstrakcie w zależności od stężenia indukują różne zmiany zarówno w hydrofilowym jak i hydrofobowym obszarze błony erytrocytów. Zwiększają one nieuporządkowanie główek polarnych lipidów oraz płynność hydrofobowego wnętrza błony, przy czym obserwowane zmiany były tym mniejsze im głębszy (hydrofobowy) obszar błony był rozpatrywany.

Przeprowadzono również badania nad skutkami oddziaływania pojedynczych składników ekstraktu z błoną, w celu ustalenia który/które ze składników ekstraktu są odpowiedzialne za obserwowane zmiany. Badania z użyciem sondy DPH lokującej się w obszarze łańcuchów węglowodorowych lipidów wykazały, że spośród badanych związków tylko procyjanidyna B₃ powoduje spadek płynności błony erytrocytów, tym większy, im wyższe jest jej stężenie. Niewielkie zmiany płynności błony obserwowano również dla procyjanidyny B₂ oraz (+) katechiny, ale w znacznie wyższych stężeniach wynoszących 40 µg/ml i wyższych. Procyjanidyna B₂ powodowała niewielki wzrost płynności błony, a (+) katechina przeciwnie, nieznacznie jej usztywnienie. Badania z użyciem sondy Laurdan wskazały, że wszystkie badane związki indukują zmiany w obszarze główek polarnych lipidów, przy czym największy spadek uporządkowania tego obszaru obserwowano w obecności kwasu neochlorogenowego. Wyniki te wskazują, że za modyfikację hydrofobowego obszaru błony erytrocytów, odpowiedzialna jest głównie procyjanidyna B₃ zawarta w ekstrakcie, natomiast pozostałe związki indukują zmiany w jej obszarze polarnym. Taka lokalizacja związków w błonie doskonale tłumaczy ich wysoką aktywność antyoksydacyjną.

Ponadto, dostępne dane literaturowe dotyczące antyproliferacyjnego działania procyjanidyn i ich hamującego wpływu na aktywność glikoproteiny P, skłoniły mnie do podjęcia dalszych badań nad aktywnością biologiczną tego ekstraktu w odniesieniu do komórek chłoniaka mysiego z limfocytów T (L5178), wrażliwych oraz opornych na działanie leków (MDR) (P4). W ramach współpracy z naukowcami z Uniwersytetu w Szeged (Węgry) zostały przeprowadzone badania oceniające żywotność i przeżywalność komórek z użyciem testu MTT, które wykazały, że składniki ekstraktu nie działają antyproliferacyjnie oraz toksycznie w odniesieniu do komórek chłoniaka. Ponadto, przeprowadzono również badania cytometryczne, które wykazały że związki zawarte w ekstrakcie nie wpływają na aktywność glikoproteiny P, ale powodują niewielkie zmiany rozmiaru komórek oraz ich ziarnistości, co wskazuje na ich niespecyficzne oddziaływanie z tymi komórkami. W badaniach tych potwierdzono, że dobrze udokumentowana aktywność antyproliferacyjna procyjanidyn jest specyficzna dla danego typu komórek oraz wykazano, że może być zahamowana w obecności innych związków polifenolowych, na skutek ich wzajemnych interakcji.

Wykazana w badaniach zaprezentowanych w pracach P1, P2 oraz P3 wysoka aktywność antyoksydacyjna ekstraktu z liści czarnej porzeczki i mini kiwi oraz charakter oddziaływania składników ekstraktów z błonami wskazuje, że liście te są cennym, tanim i łatwo dostępnym źródłem substancji antyoksydacyjnych, które można z powodzeniem wykorzystać w ochronie organizmów, w szczególności tych narażonych na stres oksydacyjny. Wykazano również, że dzięki wysokiej zawartości procyjanidyn typu B, liście mini kiwi są atrakcyjnym surowcem do ekstrakcji tych związków, które mogą być aplikowane organizmom, jako naturalne przeciwutleniacze.

2. Procyjanidyna B₃ (P4)

Wyniki badań zawarte w publikacji P2 wskazują, że procyjanidyna B₃ posiada nie tylko wysoką aktywność antyoksydacyjną ale również moduluje właściwości fizyczne błony białkowo-lipidowej, w szczególności, uporządkowanie główek polarnych lipidów i płynność błony erytrocytów. Nie można jednak, jednoznacznie stwierdzić czy obserwowane zmiany są wynikiem bezpośredniego oddziaływania tego związku z fazą lipidową i/lub białkową błony biologicznej, czy też pośredniego np. z fazą białkową poprzez modyfikację tylko fazy lipidowej. Nieliczne, dostępne w literaturze wyniki badań nad oddziaływaniem procyjanidyny

B₃

z błonami są niejednoznaczne i wskazują na silną zależność, jej aktywności biologicznej od zastosowanego modelu błon lipidowych i biologicznych^{10,11}. W zawiązku z tym podjęłam szczegółowe badania, nad oddziaływaniem procyjanidyny B₃ tylko z fazą lipidową błony w celu wyjaśnienia molekularnego mechanizmu jej aktywności biologicznej (P4). Badania te, przeprowadzono w odniesieniu do modelu lipidowego błony utworzonego z DMPC, z wykorzystaniem stacjonarnej i czasowo zależnej spektroskopii fluorescencji, spektroskopii w podczerwieni i różnicowej kalorymetrii skaningowej. Wyniki tych badań wykazały, że obecność procyjanidyny B₃ w błonie lipidowej powoduje wzrost uporządkowania główek polarnych lipidów, który jest wynikiem znacznego ograniczenia ich ruchliwości, na poziomie szkieletu

glicerolowego, bez zmian hydratacji błony w tym obszarze. Ponadto, wykazały one również, że procyjanidyna B₃ powoduje spadek płynności błony na skutek wzrostu uporządkowania łańcuchów węglowodorowych lipidów, nie wpływając przy tym na ich dynamikę. Substancja ta, nie wnika do hydrofobowego wnętrza błony, lecz tworzy wiązania wodorowe z grupą fosforanową i karbonylową lipidów, co skutkuje obniżeniem temperatury przejścia fazowego DMPC oraz spadkiem potencjału dipolowego błony. Określona w badaniach zdolność procyjanidyny B₃ do modyfikacji właściwości fizycznych błony lipidowej, a w szczególności określona po raz pierwszy zdolność do modyfikacji potencjału dipolowego, wskazuje, że związek ten może modulować aktywność białek błonowych, w szczególności tych, odpowiedzialnych za transport różnych substancji przez błony. Uzyskane wyniki wskazują, że procyjanidyna B₃ może być potencjalnie użyteczną substancją w zapobieganiu oraz leczeniu wielu schorzeń, związanych nie tylko ze stresem oksydacyjnym, ale również z niekorzystnym modulowaniem właściwości błon biologicznych.

Polifenolowe wyciągi z roślin zielarskich

2.1 Suplement z zielonej herbaty (P5)

Powszechnie dostępne suplementy i wyciągi roślinne nie podlegają restrykcyjnym wymaganiom, stąd też mogą być sprzedawane bez szczegółowych badań, określających ich wpływ na układy biologiczne. Zarówno prozdrowotne, jak i negatywne skutki działania na organizm spożywanych suplementów roślinnych, zależą od wielu czynników, w tym od wielkości przyjmowanej dawki. W ostatnich latach pojawiły się doniesienia,

z których wynika, że związki polifenolowe zawarte w zielonej herbacie, spożywane w dużych ilościach wywołują w organizmie skutki niepożądane np. działanie hepatotoksyczne¹². Ponadto, jak wykazały badania aktywność biologiczna związków polifenolowych, zawartych w zielonej herbacie jest znacząco różna od tej określonej dla wyizolowanych z niej pojedynczych składników¹³. Głównymi składnikami zielonej herbaty są galusan epigalokatchiny (EGCG) oraz kwas galusowy (GAE), które z jednej strony posiadają zarówno właściwości ochronne i lecznicze, z drugiej zaś wywołują skutki negatywne w odniesieniu do komórek¹⁴⁻¹⁶. Wykazano, że bezpieczne stężenie EGCG wynosi ok. 800 mg na dobę, lub 520 mg, gdy związek ten jest podawany w postaci ekstraktu z zielonej herbaty (polyphenon E)¹⁷. Dostępne dane wskazują zatem, że należy zachować ostrożność przyjmując suplementy z zielonej herbaty, szczególnie skoncentrowane, zawierające wysoką zawartość polifenoli. Przykładem tego typu preparatu, jest skoncentrowany wyciąg z zielonej herbaty, zawierający według producenta ponad 90% związków polifenolowych, który w ostatnich latach pojawił się na rynku polskim. Oprócz, procentowej zawartości związków polifenolowych w preparacie, nie podano żadnych informacji dotyczących jego składu. Dlatego też, w ramach współpracy z dystrybutorem tego preparatu zostały podjęte badania, które miały na celu szczegółowe określenie jego składu polifenolowego oraz aktywności biologicznej.

W publikacji P6 zamieszczono wyniki badań nad aktywnością biologiczną komercyjnie dostępnego, skoncentrowanego ekstraktu z liści i łodyg zielonej herbaty, zawierającego według producenta (Fuijan Longhua Pharmaceutical Co. Ltd., China) 99% związków polifenolowych. Badania te miały na celu określenie całkowitej zawartości związków polifenolowych w ekstrakcie, w tym identyfikację ilościową i jakościową jego poszczególnych składników oraz ocenę aktywności biologicznej, w szczególności aktywności hemolitycznej, antyoksydacyjnej i przeciwzapalnej ekstraktu. Badania wykonano również dla dwóch głównych polifenoli zielonej herbaty tj. kwasu galusowego (GAE) oraz galusanu epigalokatechiny (EGCG).

W pierwszym etapie badań metodą spektrofotometryczną oznaczono całkowitą zawartość związków polifenolowych oraz flawonoidów w preparacie, a metodami chromatografii cieczowej (UPLC/DAD, UPLC/ESI/MS) zidentyfikowano ilościowo i jakościowo poszczególne składniki. Analizy te wykazały, że w preparacie znajduje się 83% związków polifenolowych, wśród których dominującymi składnikami są: galusan

epigalokatechiny (EGCG), galusan epikatechiny (ECG) i kwas galusowy (GAE). Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły stwierdzić, że zawartość związków polifenolowych w 1 kapsułce suplementu (300 mg) wynosi ok. 250 mg, co odpowiada zawartości tych związków średnio w 2 filiżankach zielonej herbaty (2g/200ml). Udowodniono, że przy zalecanej dziennej porcji preparatu wynoszącej 1200 mg zawartość EGCG w suplemencie nie przekroczy ustalonej dobowej bezpiecznej dawki (800 mg).

Następnie, w podstawowych badaniach biofizycznych oceniono toksyczność ekstraktu, jego aktywność antyoksydacyjną oraz wpływ na właściwości fizyczne błony erytrocytów, co pozwoliło porównać te parametry, z parametrami określonymi dla głównych składników ekstraktu (EGCG oraz GAE). Badania hemolityczne nie wykazały cytotoksyczności ekstraktu i jego głównych składników przy stężeniach nawet 100-krotnie wyższych od stężeń fizjologicznych we krwi. Przeprowadzone badania wykazały natomiast, że aktywność antyoksydacyjna ekstraktu, określona na podstawie redukcji rodnika DPPH oraz stopnia inhibicji utlenienia lipidów błonowych, jest bardzo wysoka i porównywalna z aktywnością GAE oraz EGCG. Ponadto, przeprowadzono również *in vitro* badania aktywności przeciwzapalnej ekstraktu. Wykazały one, wysoką zdolność składników suplementu do hamowania aktywności cyklooksygenaz (COX-1 i COX-2) oraz lipooksygenazy (1-LOX). Jednak aktywność przeciwzapalna ekstraktu jest znacznie niższa niż EGCG i koreluje z jego zawartością w ekstrakcie wskazując, że to właśnie ten składnik jest głównie odpowiedzialny za przeciwzapalne działanie ekstraktu. Warto podkreślić również, że potencjał przeciwzapalny EGCG jest zbliżony do potencjału indametacyny, popularnie stosowanego leku z grupy niesteroidowych substancji przeciwzapalnych. Ponadto, wykazano że składniki suplementu wpływają również na właściwości fizyczne błony erytrocytów, powodując spadek jej kruchości osmotycznej i płynności oraz wzrost nieuporządkowania obszaru główek polarnych lipidów, wskutek obecności w tym obszarze dodatkowych cząsteczek wody. Uważa się, że spadek płynności błon indukowany przez katechiny, jest głównym mechanizmem odpowiedzialnym za ich działanie ochronne na wątrobę oraz hamujące agregację płytek krwi. Dlatego też, bogaty w te związki suplement oprócz działania antyoksydacyjnego i przeciwzapalnego, może wykazywać specyficzną aktywność biologiczną, której określenie wymaga przeprowadzania ukierunkowanych badań. Udowodniono, że składniki suplementu posiadają wysoką aktywność biologiczną, a jego spożycie, podobnie jak w przypadku naparu z zielonej herbaty, może przyczynić się do zapobiegania oraz ograniczenia rozwoju chorób związanych z zaburzeniem równowagi oksydacyjno-redukcyjnej.

2.2 Ekstrakt z liści czosnku niedźwiedziego (P6)

Publikacja P6, zawiera wyniki badań nad aktywnością biologiczną ekstraktu z liści czosnku niedźwiedziego (*Allium ursinum L.*), rośliny będącej źródłem zainteresowania naukowców w ostatnich latach, której właściwości prozdrowotne wyraźnie przewyższają właściwości zwykłego czosnku (*Allium sativum*). Uważa się, że za działanie przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe oraz wspomagające układ sercowo-naczyniowy, odpowiedzialne są głównie związki organiczne siarki, których zawartość w liściach tej rośliny jest znacznie wyższa niż w innych odmianach czosnku^{18,19}. Ponadto, liście czosnku niedźwiedziego zawierają znacznie więcej związków polifenolowych, głównie kemferolu i jego glikozydów, w porównaniu z kwiatami i łodygami tej rośliny²⁰. Wysoka zawartość substancji polifenolowych w liściach czosnku niedźwiedziego sprawia, że pozyskane z nich wyciągi wykazują wysoki potencjał antyoksydacyjny, potwierdzony w testach typu DPPH, ABTS czy FRAP²⁰. Testy te oparte są jednak na reakcjach redukcji wolnych rodników, natomiast nie wskazują one potencjału antyoksydacyjnego związków w odniesieniu do układów biologicznych, w przypadku których znaczenie ma nie tylko budowa chemiczna związków (m.in. zawartość grup hydroksylowych) a również sposób ich oddziaływania z błonami biologicznymi. W literaturze brak jest badań określających zdolność ekstraktu z czosnku niedźwiedziego do ochrony lipidów błonowych i komórek przed oksydacyjnym uszkodzeniem. W związku z tym, w pracy P6 zamieszczono wyniki badań, których celem było określenie aktywności antyhemolitycznej i antyoksydacyjnej ekstraktu w odniesieniu do erytrocytów i ich błon oraz określenie jego wpływu na ich właściwości fizyczne. W badaniach tych oceniono zdolność ekstraktu do zahamowania oksydacyjnego uszkodzenia erytrocytów oraz inhibicję utleniania lipidów

blonowych. Ponadto, zbadano wpływ składników ekstraktu na kształt krwinek, oporność osmotyczną, płynność oraz na uporządkowanie główek polarnych lipidów przy użyciu metod spektrofotometrycznych, fluorymetrycznych oraz mikroskopu optycznego.

Zrealizowane, po raz pierwszy badania nad aktywnością polifenolowego wyciągu z liści czosnku niedźwiedziego wykazały, że posiada on wysoką zdolność do ochrony komórek i ich błon przed utlenieniem, skutecznie zmiatając wolne rodniki znajdujące się w otaczającym je roztworze wodnym. Wykazano, że ta wysoka skuteczność antyoksydacyjna jest wynikiem wiązania się składników ekstraktu z hydrofilowym obszarem błony, czyli oddziaływania w pobliżu jej powierzchni, dzięki temu neutralizują one wolne rodniki w tym obszarze, zmniejszając ich stężenie, oraz hamując reakcje wolno-rodnikowe zabezpieczają zarówno białkowe, jak i lipidowe składniki błony przed utlenieniem. Taka lokalizacja w błonie została określona na podstawie skutków oddziaływania ekstraktu z błoną. Polifenolowy ekstrakt z czosnku niedźwiedziego moduluje właściwości fizyczne błon, skutkując niewielkim wzrostem ich płynności i odporności na zmiany toniczności środowiska. Ponadto, obserwowany wzrost płynności błony i oporności osmotycznej erytrocytów w obecności tych substancji pozwala sądzić, że nie tylko chronią one błonę przed utlenieniem, zmiatając wolne rodniki, ale również mogą przeciwdziałać niekorzystnym zmianom indukowanym w błonach i komórkach narażonych na stres oksydacyjny. Wiadomo bowiem, że skutkiem stresu oksydacyjnego jest zmiana właściwości fizycznych błon komórkowych m.in. wzrost sztywności błony erytrocytów i jej wrażliwości na zmiany ciśnienia osmotycznego^{21,22}. Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wskazują, że obok innych składników zawartych w liściach czosnku niedźwiedziego, związki polifenolowe odgrywają ważną rolę ochronną polegającą na zmiataniu i neutralizacji wolnych rodników, a więc to one głównie są odpowiedzialne za prozdrowotne właściwości tej rośliny.

3. *Cyjanidyna i jej O-glikozydy (P7 oraz P8)*

Cyjanidyny są barwnikami roślinnymi występującymi praktycznie we wszystkich kolorowych owocach, warzywach i kwiatach, głównie w formie glikozydów. Najczęściej spotykanymi glikozydami cyjanidyny są 3-*O*-monosacharydy, 3-*O*-disacharydy oraz 3-5-*O* i 3-7-*O* di-glukozydy, które stanowią około 50 % wszystkich barwników fenolowych, występujących w owocach i warzywach^{23,24}. Związki te, podobnie jak inne flawonoidy wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej m.in. działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, antyproliferacyjne oraz przeciwmiażdżycowe, które zależy od liczby i rodzaju podstawników w cząsteczce oraz miejsca ich podstawiania w szkielecie węglowym C₆-C₃-C₆²⁵. W literaturze naukowej, dostępne są tylko nieliczne badania, w których określono aktywność biologiczną pojedynczych 3-*O*-glikozydów cyjanidyny, natomiast brak jest badań określających wpływ *O*-glikozylacji na aktywność biologiczną cyjanidyny oraz dotyczących zależności pomiędzy ich aktywnością biologiczną a strukturą chemiczną. Nie opublikowano dotąd również, badań określających ich oddziaływanie z fazą lipidową błony oraz komórkami układu krążenia. W związku z tym, w ramach projektu Miniatura 1, zaplanowałam i zrealizowałam badania, oceniające aktywność biologiczną cyjanidyny i jej pięciu najczęściej spotykanych w naturze *O*-glikozydów (cyjanidyno-3-*O*-arabinozyd, cyjanidyno-3-*O*-glukozyd, cyjanidyno-3-*O*-galaktozyd, cyjanidyno-3-*O*-rutynozyd oraz cyjanidyno-3-5-*O*-diglukozyd), w odniesieniu do modeli lipidowych błon (P7) oraz wybranych komórek układu krążenia (P8). Badania zawarte w publikacji P7 wykonane były w odniesieniu do błony lipidowej utworzonej z POPC i miały one na celu określenie aktywności antyoksydacyjnej związków oraz ich zdolności do modyfikacji właściwości fizycznych błony. Badania te przeprowadzono z wykorzystaniem stacjonarnej i czasowo-zależnej spektroskopii fluorescencji oraz metodą elektroforetycznego (ELS) i dynamicznego rozpraszania światła (DLS). Pomiary anizotropii fluorescencji sondy DPH metodą stacjonarną, pozwoliły na wysunięcie następujących wniosków: cyjanidyna i jej 3-*O*-glikozydy zawierające monosacharyd, zmniejszają płynność błony lipidowej, a *O*-glikozylacja cyjanidyny znacząco hamuje jej zdolność do modyfikacji płynności błony, natomiast obecność dodatkowego monosacharydu w pozycji C₅ całkowicie ją niweluje. Ponadto, wyniki pomiarów czasowo-zależnej anizotropii fluorescencji sondy DPH pozwoliły na stwierdzenie, że obserwowany spadek płynności błony jest wynikiem, zarówno wzrostu uporządkowania łańcuchów acylowych lipidów, jak i ograniczenia ich ruchliwości. Zmiany te, wskazują również, że cyjanidyna może wnikać do błony głębiej tj. do obszaru hydrofilowo-hydrofobowego

natomiast jej *O*-glikozydy zawierające monosacharydy lokują się w hydrofilowym obszarze błony. Obserwowane zmiany płynności są wynikiem zmian indukowanych w obszarze polarnym. Związki zawierające disacharydy lub dwie cząsteczki cukru oddziałują z główkami polarnymi lipidów lub lokują się na powierzchni błony, pozostając w fazie wodnej w jej pobliżu. Wyniki badań DLS i ELS wykazały, że tylko aglikon (cyjanidyna) posiada zdolność, zarówno do agregacji pęcherzyków lipidowych, jaki i do zmiany ich potencjału Zeta. Ponadto, zdolność ta ściśle zależy od ładunku powierzchniowego błony i jest ona najwyższa dla błony neutralnej, utworzonej z POPC oraz znacząco maleje w odniesieniu do błon zawierających 5 mol% lipidów kationowych lub anionowych. Ponadto, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy skutkami oddziaływania cyjanidyny z błoną o niewielkim dodatnim ładunku powierzchniowym a tą zawierającą niewielki ładunek ujemny. Wyniki te wskazują, że obecność lipidów anionowych lub kationowych ogranicza wnikanie cyjanidyny do błony, prawdopodobnie na skutek zmian jej właściwości fizycznych w hydrofilowym obszarze. Przeprowadzone badania wykazały również, że cyjanidyna i jej glikozydy skutecznie chronią lipidy błonowe przed peroksydacją. Stopień ich ochrony jest wyższy od standardowego przeciwutleniacza jakim jest Trolox® wobec wolnych rodników indukowanych związkiem AAPH i porównywalny do Troloxu® dla wolnych rodników indukowanych nadtlenkiem wodoru. Ponadto, badania wykazały, że w przypadku rodników alkilowych, 3-*O*-glikozylacja nie wpływa na aktywność antyoksydacyjną cyjanidyny, co wskazuje, że podobnie jak w przypadku innych flawonoidów, znaczącą rolę w procesie zmiatania i neutralizacji wolnych rodników alkilowych, odgrywają grupy hydroksylowe obecne w pierścieniu B. Aktywność antyoksydacyjna glikozydów zawierających disacharyd lub dwie cząsteczki cukru jest znacznie niższa, co związane jest ze zmianą rozmiaru i struktury przestrzennej cząsteczki, a tym samym osłanianiem grup hydroksylowych. W przypadku rodników hydroksylowych, nie stwierdzono zależności pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną a liczbą i rodzajem podstawników cukrowych. Wykazano, że aktywność antyoksydacyjna cyjanidyny i jej glikozydów zależy również od rodzaju wolnych rodników, miejsca ich generacji oraz specyfiki metody zastosowanej do jej oceny.

Dane literaturowe donoszą, że cyjanidyna i niektóre jej glikozydy wykazują aktywność cytotoksyczną poprzez m.in. działanie pro-oksydacyjne, modulację cyklu komórkowego i/lub indukcję apoptozy komórek nowotworowych. Cyjanidyna hamuje proliferację i indukuje apoptozę komórek raka piersi MCF-7b oraz białaczki monocytowej^{26,27}. Cyanidyno-3-*O*-rutynozyd indukuje akumulację nadtlenu, które są zaangażowane w indukcję apoptozy w komórkach HL-6, a cyjanidyno 3-*O*-glukozyd indukuje apoptozę w komórkach glejaka GBM oraz zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2-M^{28,29}. Nie przeprowadzono jednak dotąd badań określających i porównujących aktywność biologiczną cyjanidyny i jej *O*-glikozydów w odniesieniu do erytrocytów i ludzkich komórek śródbłona mikronaczyniowego (HMEC-1). Dlatego też, w publikacji P8 zawarto wyniki badań nad wpływem cyjanidyny i jej *O*-glikozydów na właściwości fizyczne i funkcjonalne erytrocytów oraz komórek HMEC-1. W badaniach tych, po raz pierwszy, określono wpływ związków na przeżywalność i żywotność komórek śródbłona, ich cykl komórkowy, poziom wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu, w warunkach fizjologicznych i indukowanego stresu oksydacyjnego oraz zdolność związków do indukcji apoptozy. Badania te przeprowadzono przy użyciu metod spektrofotometrycznych, fluorymetrycznych oraz cytometrii przepływowej. W odniesieniu do erytrocytów zbadano aktywność hemolityczną i antyoksydacyjną związków oraz ich wpływ na kształt i potencjał transbłonowy krwinek czerwonych, z użyciem metod spektrofotometrycznych, fluorymetrycznych oraz z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego. Badania te wykazały, że użyte związki nie są toksyczne względem komórek śródbłona w szerokim zakresie stężeń, nawet ponad 100 krotnie przewyższającym ich stężenia fizjologiczne we krwi. Dla wyższych stężeń (przy których występował efekt cytotoksyczności według doniesień literaturowych) wynoszących 100 μM niewielki spadek przeżywalności komórek HMEC-1 obserwowano tylko pod wpływem cyjanidyny i cyjanidyno-3-*O*-arabinozydu. Następnie, zweryfikowano hipotezę dotyczącą synergistycznego działania niektórych antocyjanów z lekami cytostatycznymi. Przeprowadzone w tym celu badania wykazały, że użyte związki nie wpływają na toksyczność powszechnie stosowanego cytostatyka – doksorubicyny w odniesieniu do komórek śródbłona, gdyż nie stwierdzono zwiększonej przeżywalności komórek wstępnie modyfikowanych badanymi związkami a następnie potraktowanych cytostatykiem. Cyjanidyna i jej glikozydy nie indukują również zmian w cyklu

komórkowym oraz apoptozy komórek śródbłonna. Ponadto, brak toksyczności cyjanidyny i jej 3-*O*-glikozydów potwierdzono również w odniesieniu do erytrocytów. W wykonanych badaniach hemolitycznych nie stwierdzono zwiększonej hemolizy krwinek modyfikowanych badanymi związkami w szerokim zakresie stężeń. Wykazano natomiast, że badane związki wiążąc się z błoną erytrocytów indukują transformację kształtów krwinek z dyskokocytów na dyskoechinocyty, echinocyty oraz sferoechinocyty. 3-*O*-glikozylacja zmniejsza zdolność cyjanidyny do modyfikacji kształtu erytrocytów, przy czym związki zawierające monosacharydy są aktywniejsze od tych zawierających disacharyd lub dwie cząsteczki cukru. Wyniki te, korelują z tymi zaprezentowanymi w pracy P7 dotyczącymi oddziaływania cyjanidyny i jej 3-*O*-glikozydów z błoną lipidową.

Zrealizowane, w kolejnym etapie badania wykazały, że cyjanidyna i jej monoglikozydy znacząco redukują poziom wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu oraz dodatkowo chronią komórki śródbłonna naczyniowego przed oksydacyjnym uszkodzeniem, zmiatając i neutralizując wolne rodniki indukowane związkiem AAPH. Udowodniono, że w przypadku cyjanidyny, podstawienie monosacharydu w pozycji C₃ nie wpływa znacząco na jej zdolność do redukcji poziomu wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu, natomiast istotnie zwiększa jej zdolność do wychwytywania wolnych rodników indukowanych w środowisku wodnym. Oprócz tego, wykazano że związki te skutecznie chronią erytrocyty przed hemolizą indukowaną wolnymi rodnikami powstającymi w wyniku homolitycznego rozpadu związku AAPH. Poziom tej ochrony jest zbliżony dla cyjanidyny i jej 3-*O*-glikozydów zawierających monosacharyd, ale znacznie niższy dla tych zawierających dwucukier lub dwie cząsteczki cukru. Wnioski dotyczące aktywności antyoksydacyjnej cyjanidyny oraz wpływu glikozylacji na tę aktywność, potwierdzają ogólne ustalenia innych autorów dotyczące zdolności antocyjanów i antocyjanidyn do ochrony komórek przed wolnorodnikowymi uszkodzeniami. Należy podkreślić jednak, że zdolność ta zależy nie tylko od typu aglikonu, miejsca, liczby i rodzaju przyłączonego cukru, ale wydaje się być również specyficzna dla danego typu komórek, rodzaju wolnych rodników oraz zastosowanej metody detekcji.

Podsumowując wyniki badań zamieszczone w pracach P1-P8 wnoszą znaczący wkład do aktualnej wiedzy, dotyczącej aktywności biologicznej związków polifenolowych, a w szczególności molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za tą aktywność, jako skutek oddziaływania flawonoidów z błonami lipidowymi i biologicznymi oraz komórkami układu krążenia. W przedstawionym cyklu prac wykazano, że oddziaływanie ekstraktów z liści, cyjanidyn i procyanidyn z podstawowymi strukturami biologicznymi ściśle zależy od składu lipidowego modelu błony, oraz zarówno od rodzaju błony biologicznej, jak i rodzaju komórek, z którymi oddziałują. Badania zawarte w cyklu prac, składających się na osiągnięcie habilitacyjne, rozszerzają dotychczasową wiedzę, w zakresie prozdrowotnego wpływu naturalnych substancji roślinnych, na układy biologiczne. Szczególnie innowacyjne badania, mające istotny wpływ na rozwój dyscypliny nauki biologiczne, dotyczyły:

- określenia aktywności biologicznej związków polifenolowych zawartych w liściach czarnej porzeczki, odmiany szeroko uprawianej w rodzimych warunkach klimatycznych oraz udowodnienia, że liście tej rośliny, ze względu na potencjał biologiczny zawartych w nich składników, są co najmniej tak samo wartościowym surowcem roślinnym jak owoce (P1), a ich zastosowanie przyczyni się do ochrony organizmów przed skutkami zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej,
- pozyskania i zidentyfikowania, nieokreślonych dotychczas, składników polifenolowych zawartych w liściach *Actinidia arguta* oraz określenia ich aktywności biologicznej w odniesieniu do błony erytrocytów oraz wybranych prawidłowych i nowotworowych komórek układu krążenia (P2, P3)
- szczegółowego określenia skutków oddziaływania procyanidyny B₃ z fazą lipidową błon, skutkującego uzupełnieniem niekompletnej wiedzy na temat molekularnego mechanizmu oddziaływania procyanidyn typu B z błonami biologicznymi, które są pierwszym a niekiedy jedynym miejscem oddziaływania substancji egzogennych z organizmami (P4)
- uzupełnienia aktualnej wiedzy dotyczącej wpływu 3-*O*-glikozylacji na aktywność biologiczną

antocyjanów, na przykładzie cyjanidyny, oraz określenia zależności pomiędzy ich strukturą a aktywnością biologiczną w odniesieniu zarówno do fazy lipidowej błony jak i komórek układu krążenia (P7, P8)

Poddane badaniom substancje pochodzenia naturalnego charakteryzują się istotną aktywnością antyoksydacyjną, ściśle zależną od warunków indukcji stresu oksydacyjnego oraz selektywnością w modulacji właściwości fizycznych różnych błon i komórek. Przedstawione podejście badawcze, w ramach cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe, pozwoliło na szczegółowe określenie ich aktywności biologicznej, w odniesieniu do wybranych błon biologicznych i komórek układu krążenia oraz dostarczyło informacji o selektywności ich działania, a w konsekwencji do poszerzenia obszaru ich zastosowania. Wyniki przeprowadzonych badań podstawowych, dotyczące skutków działania naturalnych substancji roślinnych na organizm, na poziomie komórkowym i molekularnym, pozwalają na wykorzystanie tych naturalnych substancji w ochronie zdrowia, w czasach coraz większych zagrożeń, ze strony środowiska zewnętrznego. Zainspirują również, do ukierunkowania dalszych badań nad działaniem biologicznym tych substancji, a także nad korzystną dla zdrowia aktywnością innych, dotąd niepopularnych ekstraktów z liści roślin alimentacyjnych, o działaniu farmakologicznym.

Badania zrealizowane w ramach osiągnięcia naukowego były finansowane z projektów badawczych MNiSW, w których habilitantka była wykonawcą:

- 1) nr N N304 173840, w latach 2011-2014, pt. „Ochronny wpływ ekstraktów roślinnych na układy biologiczne narażone na działanie promieniowania UV”) kierowanym przez panią prof. dr hab. Halinę Kleszczyńską
- 2) N N312 422340, w latach 2011-2014, pt. „Oddziaływanie polifenoli roślinnych z modelowymi i naturalnymi błonami biologicznymi w aspekcie nanotechnologii”), kierowanym przez panią dr hab. Dorotę Bonarską-Kujwę,

oraz Miniatura 1 (2018, nr. DEC-2017/01/X/NZ9/00908, pt. „Molekularne podstawy oddziaływania cyjanidyny i jej glikozydów jako nutraceutyków z komórkami oraz błonami lipidowymi i biologicznymi”) w którym habilitantka była kierownikiem i głównym wykonawcą.

4.2 Dodatkowe osiągnięcia naukowe

Zarówno przed jak i po uzyskaniu stopnia doktora, realizowałam badania, które w ogólności dotyczą zagadnień związanych z biofizyką błon biologicznych. Ich głównym celem było poznanie mechanizmów oddziaływania różnych czynników oraz substancji biologicznie aktywnych z błonami biologicznymi, modelowymi oraz komórkami, na podstawie skutków tego oddziaływania. Badania takie prowadziłam w ramach współpracy naukowej z ośrodkami w kraju i zagranicą.

W ramach współpracy z pracownikami **Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz z Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu**, prowadziłam badania nad właściwościami fizycznymi *erytrocytów, pozyskanych od świń zdrowych oraz z miazdźcą wyindukowaną długoterminową dietą wysokotłuszczową i wysokowęglowodanową (HF-CD)* (P11). Ponadto, określiłam wpływ dwóch polifenolowych wyciągów z liści czystka (*Cistus incanus L.*), uzyskanych różnymi metodami ekstrakcji, na krwinki pozyskane od świń karmionych HF-CD, pod kątem praktycznego wykorzystania tych wyciągów w łagodzeniu zmian wywołanych dietą. Zbadałam wpływ HF-CD na podatność krwinek na hemolizę w roztworach fizjologicznym i hipotonicznym, kształt erytrocytów oraz ich potencjał transbłonowy. Badania te wykazały, że właściwości fizyczne krwinek pozyskanych od świń karmionych dietą HF-CD nieznacznie różnią się od tych pozyskanych od świń u których stosowano standardową dietę. Wykazano, że niewielkie

zmiany w krwinkach, obok analogicznych zaburzeń funkcji śródbłonna, mogą występować we wczesnym okresie przebiegu otyłości wywołanej dietą i funkcjonować jako marker i, być może, mediator miażdżycy. Ponadto, badania aktywności biologicznej ekstraktów z czystka wykazały, że poprzez zdolność do modyfikacji błony erytrocytów oraz skuteczną ochronę krwinek przed utlenieniem mogą one częściowo niwelować niekorzystny wpływ diety HF-CD. Erytrocyty pozyskane od świń karmionych dietą HF-CD oraz modyfikowane wyciągami z czystka są bardziej odporne na lizę w roztworach hipotonicznych. Ponadto, wyciągi te wiążąc się z krwinkami HF-CD nieznacznie zwiększają ich potencjał błonowy, którego wartość staje się bliższa tej określonej dla krwinek kontrolnych. Dodatkowo, ich oddziaływanie z błoną erytrocytów HF-CD prowadzi do zmniejszenia liczby stomatocytów, poprzez indukowanie powstawania dyskoehinocytów, przez co kształty krwinek czerwonych HF-CD stają się bardziej zbliżone do kształtów krwinek kontrolnych. Zatem wykazano, że ekstrakty z *Cistus incanus L.*, mogą częściowo kompensować niekorzystny wpływ diety HF-CD na właściwości fizyczne erytrocytów (P9).

Kolejne zadanie badawcze, które realizowałam w ramach wyżej wymienionej współpracy oraz współpracy z pracownikami Katedry Inżynierii Biomedycznej, Politechniki Wrocławskiej dotyczyło oceny *in vitro* skutków oddziaływania różnych **formulacji lipidowych zawierających fotolon** z krwinkami czerwonymi pozyskanymi od świń zdrowych i karmionych standardową dietą. Z użyciem technik spektrofotometrycznych, fluorometrycznych i mikroskopowych zbadałam wpływ pęcherzyków lipidowych wypełnionych fotolonem tj. fotosensybilizatorem zawierającym sól sodową chlorku e6 na właściwości fizyczne krwinek czerwonych (P12). W badaniach tych, fotolon traktowano jako modelową substancję leczniczą wymagającą zastosowania nośnika. Związek ten, zamykano w pęcherzykach lipidowych (LUVs) o różnym składzie tj. utworzonych z fosfatydylocholino (P1), utworzonych z PC z dodatkiem cholesterolu (P2) oraz zawierających zarówno PC i cholesterol jak i dodatek glikolu polietylenowego PEG (P3). Cholesterol dodawano do pęcherzyków lipidowych w celu uszczelnienia dwuwarstwy, a dodatek glikolu polietylenowego stosowano w celu wydłużenia okresu półtrwania LUVs w krążeniu. Zastosowane formułacje liposomowe zostały dokładnie zdefiniowane poprzez określenie: średnicy hydrodynamicznej i polidispersyjności liposomów, potencjału Zeta oraz efektywności enkapsulacji fotolonu. W badaniach tych, określiłam zdolność formacji P1, P2 oraz P3 do indukcji hemolizy erytrocytów, modyfikacji ich oporności osmotycznej i kształtów oraz potencjału transbłonowego. Ponadto, określony został wpływ liposomowych nośników fotolonu na właściwości biomechaniczne krwinek, oraz jego przenikanie i kumulacja w erytrocytach na podstawie zdjęć wykonanych mikroskopem konfokalnym. Uzyskane wyniki wykazały, że skład pęcherzyków lipidowych determinuje ich oddziaływanie z krwinkami czerwonymi oraz, że liposomy utworzone z PC (P1) są najlepszymi, spośród badanych, nośnikami leku, które poprzez oddziaływanie z krwinkami, skutkujące zmianą ich właściwości fizycznych, mogą korzystnie wpływać na ich czas życia w krwiobiegu (P10).

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Czasopismo
P9	2021	Cyboran-Mikołajczyk S., Paślawski R., Paślawska U., Nowak K., Płóciennik M., Męczarska K., Oszmiański J., Bonarska-Kujawa D., Kowalczyk P., Wawrzyńska M.	<i>Comparison of osmotic resistance, shape and transmembrane potential of erythrocytes collected from healthy and fed with high fat-carbohydrates diet (HF-CD) pigs – protective effect of Cistus Incanus L. extracts.</i>	<i>Materials (Basel)</i> , 14(4):1050. doi: 10.3390/ma14041050.

Mój udział polegał na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań: hemolitycznych, oporności osmotycznej, kształtów i potencjału transbłonowego erytrocytów pozyskanych od świń karmionych dietą HF-CD i dietą standardową. Ponadto, przeprowadziłam badania określające wpływ dwóch frakcji polifenoli z czystka na wyżej wymienione parametry fizyczne błony erytrocytów pozyskanych od świń karmionych HF-CD. Wyniki tych badań zamieszczono na rysunkach 3 i 4 oraz w tabelach 3 i 4. Dodatkowo, mój udział polegał na: analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu rysunków obrazujących wyniki wyżej wymienionych badań i ich dyskusji oraz recenzji manuskryptu przed wysłaniem do czasopisma i po recenzji.

P10	2021	Cyboran-Mikołajczyk S., Sareło P., Paślawski R., Paślawska U., Przybyło M., Nowak K., Płóciennik M., Podbielska H., Kopaczyńska M., Wawrzyńska M.	<i>Impact of liposomal drug formulations on the RBCs shape, transmembrane potential, and mechanical properties.</i>	<i>International Journal of Molecular Sciences</i> , 22: 1710. https://doi.org/10.3390/ijms22041710 .
-----	------	---	---	---

Mój udział polegał na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań określających wpływ formułacji P1, P2 oraz P3 na hemolizę, oporność osmotyczną, kształty i potencjał transbłonowy erytrocytów, których wyniki zamieszczono na rysunkach 4 i 5 oraz w tabeli 2. Ponadto, mój udział polegał na: analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu rysunków obrazujących wyniki wyżej wymienionych badań oraz recenzji manuskryptu przed wysłaniem

do czasopisma i po recenzji.

Dodatkowo, w ramach współpracy z pracownikami **Katedry Chemii Żywności i Biokatalizy, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu** zbadalam oddziaływanie *nowych pochodnych 6-metyloflawanonu otrzymanych w procesie biotransformacji* przez grzyby strzępkowe z błonami lipidowymi i biologicznymi oraz ludzką transferyną (P11). Badania te obejmowały ocenę aktywności biologicznej produktów biotransformacji 6-metyloflawanonu, zawierających resztę *O*-metyloglukozy dołączoną do różnych atomów węgla szkieletu flawononowego, w odniesieniu do lipidowego modelu błony utworzonego z POPC, błony erytrocytów i erytrocytów oraz ludzkiej holo-transferyny. W badaniach tych określiłam toksyczność związków, ich wpływ na płynność hydrofobowego i uporządkowanie hydrofilowego obszaru błony lipidowej i erytrocytów oraz ich wpływ na oporność osmotyczną i kształty erytrocytów. Ponadto, na podstawie gaszenia fluorescencji tryptofanu indukowanego przez badane związki, określiłam mechanizm ich oddziaływania z holo-transferyną. Dodatkowo, na podstawie skutków oddziaływania związków z błonami i komórkami określiłam zależność pomiędzy ich aktywnością biologiczną i strukturą chemiczną. Wykazałam, że badane związki nie są toksyczne dla erytrocytów oraz, że posiadają wysoką zdolność do modulacji właściwości fizycznych błon m.in. płynności błony oraz uporządkowania główek polarnych lipidów błonowych, która zależy nie tylko od miejsca podstawienia reszty *O*-metyloglukozy w cząsteczce, ale również od zawartości, liczby i położenia grup hydroksylowych i metylowych w szkielecie flawanonu. Najwyższą aktywnością biologiczną, jak wykazały badania, posiada związek zawierający grupę hydroksylową w pozycji 3' oraz *O*-metyloglukozę w pozycji 4' pierścienia B oraz grupę metylową dołączoną do 6 atomu węgla pierścienia A. Ponadto, wykazałam że, badane związki tworzą kompleksy z holo-transferyną, wiążąc się z białkiem niekowalencyjnie, a oddziaływanie flawanon-białko zależy od liczby i pozycji grup hydroksylowych w szkielecie cząsteczki. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy (P13) oraz zaprezentowane na konferencjach międzynarodowych w formie wystąpienia ustnego (S1) oraz plakatu (S2), który został wyróżniony nagrodą.

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Czasopismo/Konferencja
P11	2022	Cyboran-Mikołajczyk S*, Bonarska-Kujawa D., Męczarska K., Krawczyk-Lebek A., Kostrzewa-Susłow E.	<i>Novel O-Methylglucoside derivatives of flavanone in interaction with model membrane and transferrin.</i>	Membranes, 12, 978. https://doi.org/10.3390/membranes1210097 .
Mój udział polegał na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu wszystkich badań eksperymentalnych zawartych w pracy tj. aktywności hemolitycznej związków oraz ich wpływu na oporność osmotyczną i kształty erytrocytów, wpływu związków na płynność hydrofobowego i uporządkowanie hydrofilowego obszaru błony lipidowej i erytrocytów, ocenie oddziaływania związków z transferyną. Wyniki tych badań zamieszczono na rysunkach 2-7 oraz w tabeli 1. Ponadto, mój udział polegał na: analizie uzyskanych danych i interpretacji wyników, wykonaniu analizy aktywność-struktura, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego.				
S1	2022	Cyboran-Mikołajczyk S., Męczarska K., Krawczyk-Lebek A., Bonarska-Kujawa D., Kostrzewa-Susłow E.	<i>Interaction of 6-methylflavanone biotransformation products with erythrocytes and their membrane.</i>	Biotechnology- Research and Industrial Application, Wrocław, Polska, 15-16 listopada, 2022, book of abstracts, p. 27
S2	2023	Łucja Kordylas, Sylwia Cyboran-Mikołajczyk, Katarzyna Męczarska, Agnieszka Krawczyk-Lebek, Edyta Kostrzewa-Susłow	<i>Skutki oddziaływania nowych O-metyloglukozydowanych pochodnych flawanonu z błonami lipidowymi i biologicznymi oraz ludzką transferyną</i>	IV Sympozjum Biomateriały w Medycynie i Kosmetologii, Toruń, Polska, 22 lutego 2023, materiały konferencyjne, str. 16.

* autor korespondencyjny

Ponadto, w ramach współpracy z pracownikami **Wydziału Chemii, Politechniki Wrocławskiej** zajmowałam się badaniem oddziaływania surfaktantów gemini z błoną biologiczną. Badania te prowadziłam nad *nowymi syntetycznymi surfaktantami - estrami glicyny czwartorzędowych soli amoniowych*, o zróżnicowanej strukturze chemicznej. Związki te zostały zaprojektowane, jako potencjalne inhibitory pomp oporności wielolekowej (MDR). Ważnymi elementami, które determinują właściwości tych związków są rodzaj ugrupowania hydrofobowego, a w szczególności długość łańcucha węglowodorowego oraz rodzaj łącznika między łańcuchami alkilowymi. W ramach współpracy zrealizowałam badania oceniające

toksyczność hemolityczną tych związków w odniesieniu do erytrocytów oraz badania ich wpływu na właściwości fizyczne błony erytrocytów. Na podstawie skutków ich oddziaływania z błonami określiłam zależność pomiędzy ich strukturą chemiczną a aktywnością biologiczną, a w szczególności określiłam wpływ długości łańcuchów alkilowych oraz łącznika występującego między łańcuchami na tę aktywność. Zrealizowane badania wykazały, że związki te indukują hemolizę erytrocytów oraz zmiany uporządkowania główek polarnych i płynności błony erytrocytów. Największą aktywność hemolityczną i zdolność do modyfikacji błon wykazywały związki zawierające długie łańcuchy alkilowe oraz większy łącznik między łańcuchami, co wskazuje, że mogą one znaleźć zastosowanie głównie jako biocydy. Mniej aktywne związki, zawierające krótsze łańcuchy węglowodorowe i mniejszy łącznik, mogą natomiast być rozważane, jako nośniki leków lub DNA w terapii genowej. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy (P12) oraz zaprezentowane na konferencji w formie plakatu (S3).

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Czasopismo/Konferencja
P11	2016	Cyboran-Mikołajczyk S.*, Bonarska-Kujawa D., Łuczyński J., Kleszczyńska H.	<i>Effects of interaction of gemini ester quat surfactants with biological membranes.</i>	Tenside Surfactants Detergents, 53(1): 1-9
<p>Mój udział polegał na: przygotowaniu i przeprowadzeniu badań hemolitycznych i oporności osmotycznej erytrocytów oraz fluorymetrycznych płynności i uporządkowania błony erytrocytów dla szeregu związków TMPG oraz TMEG, których wyniki zamieszczono na rysunkach 1 i 2 oraz w tabelach 3-6. Ponadto, mój udział polegał na: analizie uzyskanych danych i interpretacji wyników, wykonaniu analizy aktywność-struktura, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego.</p>				
S3	2017	Cyboran-Mikołajczyk S., Bonarska-Kujawa D., Łuczyński J., Kleszczyńska H.	<i>Oddziaływanie kationowych surfaktantów gemini z błoną biologiczną</i>	V konferencja „Związki biologicznie czynne: aktywność, struktura, synteza. Białystok, 9-11 czerwca, 2017, Książka Abstraktów, s.80,

* autor korespondencyjny

Innym tematem badawczym z zakresu toksykologii, współrealizowanym przeze mnie po uzyskaniu stopnia doktora był wpływ *mezoporowatych nanocząstek krzemionki pirogeniczej oraz biogennej* na błony erytrocytów i komórki śródbłonna naczyniowego HMEC-1 (P12). W badaniach tych wykorzystano nanocząstki biogennej krzemionki o wysokiej czystości (*bio SiO₂*), otrzymane z pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica L.*) oraz komercyjnie dostępną krzemionkę pirogeniczną (*pir SiO₂*). Oceniono toksyczność nanomateriałów krzemionkowych oraz ich wpływ na: oporność osmotyczną i kształty erytrocytów; oraz poziom reaktywnych form tlenu (ROS) w komórkach HMEC-1. Zrealizowane badania wykazały, że nanocząstki *bio SiO₂* wykazują wyższą toksyczność od *pir SiO₂*, oraz, że mają one większy wpływ na produkcję wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu. Ponadto, wykazano że użyte w badaniach nanocząstki krzemionki posiadają dobrą hemokompatybilność, jednak po 24-godzinnej modyfikacji erytrocytów nasilają one proces hemolizy, powodują spadek oporności osmotycznej krwinek czerwonych oraz zmianę ich kształtu. Na podstawie uzyskanych wyników ustalono, że zarówno biogenne jak i pirogeniczne nanocząstki krzemionki, użyte w odpowiedniej dawce nie przekraczającej 50µg/ml, są bezpieczne dla erytrocytów i komórek śródbłonna naczyniowego.

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Czasopismo
P12	2021	Solarska-Ściuk K., Adach K., Cyboran-Mikołajczyk S., Bonarska-Kujawa D., Rusak A., Cwynar-Zajac Ł., Machalowski T., Jesionowski T., Grzywacz K., Fijałkowski M.	<i>Are biogenic and pyrogenic mesoporous SiO₂ nanoparticles safe for normal cells?</i>	<i>Molecules</i> , 26, 1427. https://doi.org/10.3390/molecules26051427
<p>Mój udział polegał na: zaplanowaniu badań aktywności hemolitycznej oraz oporności osmotycznej erytrocytów, analizie uzyskanych danych i interpretacji wyników, pomocy w napisaniu pracy w części dotyczącej erytrocytów, oraz recenzji manuskryptu przed wysłaniem do czasopisma i po recenzji, pomocy w odpowiedzi na recenzję.</p>				

Poza wyżej wymienionymi osiągnięciami naukowymi, w mojej dotychczasowej karierze naukowej, przeprowadziłam również szereg badań określających *aktywność biologiczną innych związków polifenolowych i wyciągów polifenolowych z różnych części roślin*. Aktywność tą oceniałam na podstawie ich

zdolności do zmiatania i neutralizacji wolnych rodników oraz wielkości zmian parametrów fizycznych błon biologicznych oraz fizycznych i funkcjonalnych komórek indukowanych przez te związki. Badania te dotyczyły: kwasu chlorogenowego³⁰, ekstraktu z pigwowca japońskiego (*Chaenomeles speciosa*)³¹, ekstraktu z pigwy (*Cydonia oblonga* Mill.)³², ekstraktu z liści i owoców jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* Sevast.)³³ oraz liści poziomki (*Fragaria vesca* L.) i jeżyny (*Rubus idaeus* L.)³⁴. Większość ekstraktów polifenolowych, które były przedmiotem badań, otrzymałam **w ramach współpracy naukowej z Katedry Technologii, Owoców, Warzyw i Nutraceutyków Roślinnych, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu** wraz z ilościową i jakościową analizą ich składu. Dla wyżej wymienionych ekstraktów i związków polifenolowych przeprowadziłam badania z użyciem różnych metod i technik pomiarowych, które w większości zostały opisane w osiągnięciu naukowym. Aktywność hemolityczną związków oraz ich wpływ na oporność osmotyczną erytrocytów, oceniałam spektrofotometrycznie na podstawie stężenia hemoglobiny uwalnianej z komórek poddanych modyfikacji^{33,34}. Zdolność związków do hamowania oksydacyjnego uszkodzenia lipidów błonowych i komórek, indukowanego różnymi czynnikami fizykochemicznymi, oceniałam fluorymetrycznie i spektrofotometrycznie^{33,34}. Metodą fluorymetryczną zbadalam również wpływ związków na uporządkowanie części hydrofilowej błony i płynność hydrofobowego obszaru błon erytrocytów i lipidowej³¹⁻³⁴. Wpływ związków na stabilność, pojemność i rezystancję płaskich błon lipidowych (BLM), uformowanych metodą Muellera–Rudina zarówno z lipidów syntetycznych jak i z lipidów wyekstrahowanych z błony erytrocytów określiłam metodą elektryczną^{30,33}. Na podstawie uzyskanych rezultatów badań, można stwierdzić, że zarówno badane ekstrakty jak i związki polifenolowe nie działają destrukcyjnie na błony, ale zwiększają ich wytrzymałość na zmiany ciśnienia osmotycznego otaczającego je środowiska. Skutecznie chronią one błony i komórki przed oksydacyjnym uszkodzeniem. Ich działanie ochronne polega na zmiataniu wolnych rodników, które skutkuje redukcją ich stężenia w roztworze, oraz na ograniczeniu ich dyfuzji do jej wnętrza. Jest to możliwe, gdyż tworzą one barierę na powierzchni błony, wiążąc się z obszarem główek polarnych lipidów lub pozostają w roztworze wodnym na powierzchni błony. Badane związki polifenolowe nie wnikają do hydrofobowego obszaru błony, gdyż nie modyfikują obszaru łańcuchów węglowodorowych lipidów błonowych. Indukują one zmiany w rozkładzie ładunku elektrycznego na powierzchni błon, skutkujące zmianami oporności i pojemności elektrycznej płaskich błon lipidowych co potwierdza ich obecność w hydrofilowym obszarze błony.

Aktualnie, moje zainteresowania badawcze dotyczą oddziaływania chlorowanych pochodnych 2'-hydroksychalkonu z błonami lipidowymi o różnym ładunku powierzchniowym, w tym z modelem błony komórek bakteryjnych. Celem tych badań jest określenie, w badaniach biofizycznych, skutków oddziaływania tych związków z fazą lipidową błony, pod kątem ich potencjalnego działania antybakteryjnego i przeciwnowotworowego. Określenie zależności pomiędzy aktywnością biologiczną związków a miejscem podstawienia atomu chloru (SARs) pozwoli na wykazanie potencjalnego efektu farmakologicznego tych związków z nadzieją ich praktycznego zastosowania w profilaktyce zdrowia, wspomaganiu leczenia i/lub leczenia chorób. Ponadto, ze względu na bardzo duże możliwości modyfikacji strukturalnych chalkonów, określenie SARs pozwoli na zaprojektowanie nowych związków charakteryzujących się zwiększoną aktywnością oraz na optymalizację ich właściwości farmakokinetycznych.

4.3 Literatura:

- (1) Farag, M. R.; Alagawany, M. Erythrocytes as a Biological Model for Screening of Xenobiotics Toxicity. *Chem. Biol. Interact.* **2018**, 279, 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.007>.
- (2) Vapaatalo, H.; Mervaala, E. Clinically Important Factors Influencing Endothelial Function. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* **2001**, 7 (5), 1075–1085.

- (3) Cyboran, S.; Oszmiański, J.; Kleszczyńska, H. Interaction between Plant Polyphenols and the Erythrocyte Membrane. *Cell. Mol. Biol. Lett.* **2011**, *17* (1), 77–88. <https://doi.org/10.2478/s11658-011-0038-4>.
- (4) Bonarska-Kujawa, D.; Cyboran, S.; Żyłka, R.; Oszmiański, J.; Kleszczyńska, H. Biological Activity of Blackcurrant Extracts (*Ribes Nigrum* L.) in Relation to Erythrocyte Membranes. *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, e783059. <https://doi.org/10.1155/2014/783059>.
- (5) Zuo, L.-L.; Wang, Z.-Y.; Fan, Z.-L.; Tian, S.-Q.; Liu, J.-R. Evaluation of Antioxidant and Antiproliferative Properties of Three Actinidia (*Actinidia Kolomikta*, *Actinidia Arguta*, *Actinidia Chinensis*) Extracts in Vitro. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13* (5), 5506–5518. <https://doi.org/10.3390/ijms13055506>.
- (6) Kaur, M.; Singh, R. P.; Gu, M.; Agarwal, R.; Agarwal, C. Grape Seed Extract Inhibits in Vitro and in Vivo Growth of Human Colorectal Carcinoma Cells. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2006**, *12* (20 Pt 1), 6194–6202. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1465>.
- (7) Zhao, B.; Sun, Y.; Wang, S.; Duan, L.; Huo, Q.; Ren, F.; Li, G. Grape Seed Procyanidin Reversal of P-Glycoprotein Associated Multi-Drug Resistance via down-Regulation of NF-KB and MAPK/ERK Mediated YB-1 Activity in A2780/T Cells. *PLoS One* **2013**, *8* (8), e71071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071071>.
- (8) He, L.; Zhao, C.; Yan, M.; Zhang, L.-Y.; Xia, Y.-Z. Inhibition of P-Glycoprotein Function by Procyanidine on Blood-Brain Barrier. *Phytother. Res. PTR* **2009**, *23* (7), 933–937. <https://doi.org/10.1002/ptr.2781>.
- (9) Motohashi, N.; Shirataki, Y.; Kawase, M.; Tani, S.; Sakagami, H.; Satoh, K.; Kurihara, T.; Nakashima, H.; Mucsi, I.; Varga, A.; Molnár, J. Cancer Prevention and Therapy with Kiwifruit in Chinese Folklore Medicine: A Study of Kiwifruit Extracts. *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *81* (3), 357–364. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00125-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00125-3).
- (10) Verstraeten, S. V.; Hammerstone, J. F.; Keen, C. L.; Fraga, C. G.; Oteiza, P. I. Antioxidant and Membrane Effects of Procyanidin Dimers and Trimers Isolated from Peanut and Cocoa. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53* (12), 5041–5048. <https://doi.org/10.1021/jf058018m>.
- (11) Verstraeten, S. V.; Oteiza, P. I.; Fraga, C. G. Membrane Effects of Cocoa Procyanidins in Liposomes and Jurkat T Cells. *Biol. Res.* **2004**, *37* (2), 293–300. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602004000200016>.
- (12) Patel, S. S.; Beer, S.; Kearney, D. L.; Phillips, G.; Carter, B. A. Green Tea Extract: A Potential Cause of Acute Liver Failure. *World J. Gastroenterol.* **2013**, *19* (31), 5174–5177. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i31.5174>.
- (13) Fu, H.; He, J.; Mei, F.; Zhang, Q.; Hara, Y.; Ryota, S.; Lubet, R. A.; Chen, R.; Chen, D.-R.; You, M. Lung Cancer Inhibitory Effect of Epigallocatechin-3-Gallate Is Dependent on Its Presence in a Complex Mixture (Polyphenon E). *Cancer Prev. Res. Phila. Pa* **2009**, *2* (6), 531–537. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-08-0185>.
- (14) Ugartondo, V.; Mitjans, M.; Lozano, C.; Torres, J. L.; Vinardell, M. P. Comparative Study of the Cytotoxicity Induced by Antioxidant Epicatechin Conjugates Obtained from Grape. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (18), 6945–6950. <https://doi.org/10.1021/jf061356i>.
- (15) Cavet, M. E.; Harrington, K. L.; Vollmer, T. R.; Ward, K. W.; Zhang, J.-Z. Anti-Inflammatory and Anti-Oxidative Effects of the Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate in Human Corneal Epithelial Cells. *Mol. Vis.* **2011**, *17*, 533–542.
- (16) Tipoe, G. L.; Leung, T.-M.; Hung, M.-W.; Fung, M.-L. Green Tea Polyphenols as an Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Agent for Cardiovascular Protection. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets.* **2007**, *7* (2), 135–144. <https://doi.org/10.2174/187152907780830905>.

- (17) Chow, H.-H. S.; Cai, Y.; Hakim, I. A.; Crowell, J. A.; Shahi, F.; Brooks, C. A.; Dorr, R. T.; Hara, Y.; Alberts, D. S. Pharmacokinetics and Safety of Green Tea Polyphenols after Multiple-Dose Administration of Epigallocatechin Gallate and Polyphenon E in Healthy Individuals. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2003**, *9* (9), 3312–3319.
- (18) Bagiu, R. V.; Vlaicu, B.; Butnariu, M. Chemical Composition and in Vitro Antifungal Activity Screening of the *Allium Ursinum* L. (Liliaceae). *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13* (2), 1426–1436. <https://doi.org/10.3390/ijms13021426>.
- (19) Sobolewska, D.; Podolak, I.; Makowska-Wąs, J. *Allium Ursinum*: Botanical, Phytochemical and Pharmacological Overview. *Phytochem. Rev. Proc. Phytochem. Soc. Eur.* **2015**, *14* (1), 81–97. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9334-0>.
- (20) Lachowicz, S.; Kolniak-Ostek, J.; Oszmiański, J.; Wiśniewski, R. Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Bear Garlic (*Allium Ursinum* L.) in Different Maturity Stages. *J. Food Process. Preserv.* **2017**, *41* (1), e12921. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12921>.
- (21) Walski, T.; Chludzińska, L.; Komorowska, M.; Witkiewicz, W. Individual Osmotic Fragility Distribution: A New Parameter for Determination of the Osmotic Properties of Human Red Blood Cells. *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, 162102. <https://doi.org/10.1155/2014/162102>.
- (22) Tsuda, K. Oxidative Stress and Membrane Fluidity of Red Blood Cells in Hypertensive and Normotensive Men: An Electron Spin Resonance Investigation. *Int. Heart. J.* **2010**, *51* (2), 121–124. <https://doi.org/10.1536/ihj.51.121>.
- (23) Andersen, O. M.; Markham, K. R. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*; CRC Press, 2005.
- (24) Kong, J.-M.; Chia, L.-S.; Goh, N.-K.; Chia, T.-F.; Brouillard, R. Analysis and Biological Activities of Anthocyanins. *Phytochemistry* **2003**, *64* (5), 923–933. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2).
- (25) *Křen: Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology I–III - Google Scholar*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Glycoscience:+Chemistry+and+Chemical+Biology+I%E2%80%93III&author=V.+K%C5%99en&publication_year=2001& (accessed 2023-03-27).
- (26) Hyun, J. W.; Chung, H. S. Cyanidin and Malvidin from *Oryza Sativa* Cv. Heugjinjubyeo Mediate Cytotoxicity against Human Monocytic Leukemia Cells by Arrest of G2/M Phase and Induction of Apoptosis. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (8), 2213–2217. <https://doi.org/10.1021/jf030370h>.
- (27) Delphinidin and Cyanidin Exhibit Antiproliferative and Apoptotic Effects in MCF7 Human Breast Cancer Cells. *Integr. Cancer Sci. Ther.* **2015**, *2* (1). <https://doi.org/10.15761/ICST.1000119>.
- (28) Hosseini, M. M.; Karimi, A.; Behroozaghdam, M.; Javidi, M. A.; Ghiasvand, S.; Bereimipour, A.; Aryan, H.; Nassiri, F.; Jangholi, E. Cytotoxic and Apoptogenic Effects of Cyanidin-3-Glucoside on the Glioblastoma Cell Line. *World Neurosurg.* **2017**, *108*, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.08.133>.
- (29) Feng, R.; Ni, H.-M.; Wang, S. Y.; Tourkova, I. L.; Shurin, M. R.; Harada, H.; Yin, X.-M. Cyanidin-3-Rutinoside, a Natural Polyphenol Antioxidant, Selectively Kills Leukemic Cells by Induction of Oxidative Stress*. *J. Biol. Chem.* **2007**, *282* (18), 13468–13476. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610616200>.
- (30) Bonarska-Kujawa, D.; Cyboran-Mikołajczyk, S.; Kleszczyńska, H. Molecular Mechanism of Action of Chlorogenic Acid on Erythrocyte and Lipid Membranes. *Mol. Membr. Biol.* **2015**, *32* (2), 46–54. <https://doi.org/10.3109/09687688.2015.1031833>.
- (31) *Biological Activity of Japanese Quince Extract and Its Interactions with Lipids, Erythrocyte Membrane, and Human Albumin - PubMed*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26861057/> (accessed 2023-05-14).

- (32) Strugała, P.; Cyboran-Mikołajczyk, S.; Wyspiańska, D.; Sokół-Łętowska, A.; Piórecki, N.; Gabrielska, J. Interactions of Bioactive Quince (*Cydonia Oblonga* Mill.) Extract with Biomolecules. *Rec. Nat. Prod.* **2017**, *12* (1), 40–52. <https://doi.org/10.25135/rnp.02.17.02.035>.
- (33) Bonarska-Kujawa, D.; Pruchnik, H.; Cyboran, S.; Żyłka, R.; Oszmiański, J.; Kleszczyńska, H. Biophysical Mechanism of the Protective Effect of Blue Honeysuckle (*Lonicera Caerulea* L. Var. *Kamtschatica* Sevest.) Polyphenols Extracts against Lipid Peroxidation of Erythrocyte and Lipid Membranes. *J. Membr. Biol.* **2014**, *247* (7), 611–625. <https://doi.org/10.1007/s00232-014-9677-5>.
- (34) Cyboran-Mikołajczyk, S.; Męczarska, K.; Solarska-Ściuk, K.; Ratajczak-Wielgomas, K.; Oszmiański, J.; Jencova, V.; Bonarska-Kujawa, D. Protection of Erythrocytes and Microvascular Endothelial Cells against Oxidative Damage by *Fragaria Vesca* L. and *Rubus Idaeus* L. Leaves Extracts-The Mechanism of Action. *Mol. Basel Switz.* **2022**, *27* (18), 5865. <https://doi.org/10.3390/molecules27185865>.

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

5.1 Aktywność naukowa w jednostkach zagranicznych

W latach 2014-2015 odbyłam 3 miesięczny staż naukowy w *Instytucie Chemii Fizycznej im. Jarosława Heyrovskiego Czeskiej Akademii Nauk* w grupie badawczej prof. Martina Hofa (Hof Fluorescence Group). W ramach stażu zapoznałam się z procedurą tworzenia gigantycznych pęcherzyków lipidowych (GUVs) oraz z czasowo-zależnymi metodami pomiaru fluorescencji, spektroskopią korelacji fluorescencji oraz mikroskopią fluorescencyjną. Podczas tego pobytu, metody te wykorzystałam do badań realizowanych w ramach własnych projektów i dotyczyły one m.in. oddziaływania cyjanidyn oraz procyjanidyny B₃ z modelem lipidowym błony (wyniki tych badań są opublikowane w pracach P4 oraz P7 włączonych do osiągnięcia). W roku 2016 odbyłam kolejny 3 miesięczny staż naukowy w tej jednostce, podczas którego zajmowałam się wpływem produktów utleniania steroli (oxysterols) i fosfolipidów (truncated lipids) na właściwości fizyczne błon lipidowych oraz ich wzajemnymi oddziaływaniami w błonie. Określiłam m.in. ich wpływ na ruchliwość i hydratację lipidów błonowych, na poziomie szkieletu glicerolowego, z wykorzystaniem metod stacjonarnej i czasowo-zależnej spektroskopii fluorescencji. Badania te przeprowadzałam na dużych pęcherzykach lipidowych (LUVs) utworzonych z POPC, POPC z dodatkiem 10 mol% utlenionych fosfolipidów (POVPC i PGPC), cholesterolem oraz produktami jego utleniania; 7β-OH and 27-OH cholesterol. W 2017 roku, w ramach trzeciego dwumiesięcznego pobytu w Instytucie, zajmowałam się zmianami przepuszczalności błon lipidowych dla jonów wapnia, indukowanymi produktami utleniania lipidów. Wstępnie opracowałam metodę pomiaru przepuszczalności lipidowej błony POPC dla jonów wapnia z użyciem sondy Indo-1, której intensywność fluorescencji wzrasta w wyniku wiązania się z jonami wapnia. Otrzymane wyniki badań, pozwoliły porównać przepuszczalności błony lipidowej z błonami dodatkowo modyfikowanymi tj. wzbogaconymi w cholesterol i produkty jego utlenienia (POPC z dodatkiem 10 mol% cholesterolu, 27-OH oraz 7β-OH cholesterolu). Przeprowadzone badania jednoznacznie wykazały, że obecność w błonie cholesterolu z utlenionym łańcuchem (27-OH cholesterol), znacząco zwiększa przepuszczalność błony dla jonów Ca²⁺. Potwierdzenie odbycia wyżej wymienionych staży wraz z wyszczególnioną tematyką badawczą zawiera **załącznik nr 7**. W efekcie mojej współpracy z Instytutem Chemii Fizycznej Czeskiej Akademii Nauk powstały dotąd, dwie publikacje naukowe (P4 oraz P7 włączone do osiągnięcia), wyniki badań były również przedstawione na dwóch międzynarodowych i jednej zagranicznej konferencji; w formie ustnej prezentacji (S4) oraz dwóch posterów konferencyjnych (S5-S6).

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Konferencja
S4	2017	Jurkiewicz P., Cyboran-Mikołajczyk S. , Hof M.	<i>Oxidized phospholipids – fluorescence spectroscopy.</i>	5 th EJTEMM European Joint Theoretical/Experimental Meeting on Membranes, 6-8 December, 2017, Kraków, Poland, Book of Abstract p. 40.
S5	2016	Kleszczyńska H., Cyboran-Mikołajczyk S. , Jurkiewicz P., Solarska-Ściuk K., Żyłka R., Hof M.	<i>Interaction of cyanidin and its glycosides with lipid membrane: structure activity relationship.</i>	XVI Conference of Polish Biophysical Society, Ryn, 28 Jun – 01 July, 2016, Current Topics in Biophysics, vol. 39 (suppl. A)
S6	2018	Cyboran-Mikołajczyk S. , Delcroix P., Stepanchuk A., Ćwiklik L., Hof M., Jurkiewicz P.	<i>Coaction of oxysterols and oxidized phospholipids in model lipid membranes.</i>	The Levi 4 meeting: Biologically relevant membrane and monolayer related processes, May 23-26, 2018, Nové Hradý, Czech Republic, Book of abstract, S5a.

W 2014 roku odbyłam także miesięczny staż naukowy w laboratorium biotechnologicznym *Instytutu Biofizyki i Inżynierii Komórkowej, Narodowej Akademii Nauk Białorusi*, pod opieką dr Dzmitry G. Shcharbin w ramach stypendium finansowanego z grantu FP7-PEOPLE-2012-IRSES NANOGENE EU-Belarus-Russia Network in Nanomaterials-Driven Anti-Cancer Gene Therapy. W ramach tego stażu zapoznałam się z technikami wykorzystywanymi do badań oddziaływań różnych nanocząstek z białkami oraz zrealizowałam zadanie badawcze pt. ” Oddziaływanie pomiędzy dendrymerami-Au a albuminą ludzką”. W ramach tego zadania określiłam oddziaływanie różnych generacji dendronizowanych nanocząstek złota (AuNPs) i opowiadających im dendrymerów karbosilanowych z ludzką albuminą z wykorzystaniem metody gaszenia fluorescencji reszt tryptofanu tego białka. Dodatkowo, z użyciem znacznika 1,8-ANS określiłam stałą wiązania oraz liczbę miejsc wiążących przypadających na dendronizowane nanocząsteczki złota i dendrony. Przeprowadzone badania wykazały, że zdolność wiązania AuNPs do ANS jest znacząco wyższa niż odpowiadających im dendronów, oraz że rośnie ona wraz ze wzrostem generacji przyłączonego dendronu. Oznacza to, że sztywne nanocząstki złota stabilizowane przez dendrony trzeciej generacji (o wysokiej liczbie grup MNe_3^+) wykazują największe powinowactwo do hydrofobowej sondy ANS. Ponadto, przeprowadzone badania wykazały, że zarówno dendronizowane nanosząski złota jak i odpowiadające im dendrony wiążą się z albuminą powierzchniowo, a siła tego oddziaływania zależy od gęstości ładunku badanych cząstek. Ustalono, że wpływ AuNPs na strukturę i właściwości immunochemiczne albuminy znacząco maleje wraz ze wzrostem ilości przyłączonego dendronu, dlatego też, funkcjonalizacja nanocząstek złota przez dendrymery karbosilanowe może być przydatna w zapobieganiu ich interakcji z białkami obecnymi w surowicy krwi. Wyniki tych badań są istotne, ze względu na fakt, że oddziaływanie nanocząstek z białkami osocza jest największym wyzwaniem przy próbach wykorzystania nanocząstek w medycynie, jako nośników np. kwasu nukleinowego. Efektem tej współpracy jest jedna publikacja naukowa (P9). Potwierdzenie odbycia stażu wraz z wyszczególnioną tematyką badawczą znajduje się w *załączniku nr 7*.

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Czasopismo
P13	2018	Shcharbin D., Pedziwiatr-Werbicka E., Serchenya T., Cyboran-Mikołajczyk S. , Prakhira L., Abashkin V., Dzitruk V., Ionov M., Loznikova S., Shyrochyna I., Sviridov O., Peña-González C.E., Barrios Gumiel A., Gómez R., de la Mata F.J., Bryszewska M.	<i>Role of cationic carbosilane dendrons and metallic core of functionalized gold nanoparticles in their interaction with human serum albumin.</i>	International Journal of Biological Macromolecules, 118(Pt B):1773-1780, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.023

Mój udział polegał na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań fluorymetrycznych oddziaływania AuNPs i dendrymerów z sondą ANS oraz ludzką albuminą (pH 7.4), których wyniki zamieszczono na rysunku 2 oraz w tabeli 2, recenzji manuskryptu przed wysłaniem do czasopisma i po recenzji.

5.2 Aktywność naukowa w innych jednostkach

W 2016 roku nawiązałam współpracę z Prof. Piotrem Dzięgielem, kierownikiem **Katedry Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu**, w ramach której w pracowni komórkowej Katedry Histologii i Embriologii UM prowadziłam hodowlę komórek śródbłonka naczyń (HMEC-1) oraz badania nad aktywnością biologiczną cyjanidyn (P8) oraz ekstraktów z liści poziomki i jeżyny (P10) w odniesieniu do tych komórek. Badania te obejmowały: oznaczanie przeżywalności i żywotności komórek

modyfikowanych badanymi związkami z użyciem metod spektrofotometrycznych i fluorometrycznych (testy MTT, XTT, Hoechst 33342), badanie zdolności związków do indukcji procesu apoptozy metodą cytometrii przepływowej oraz ocenę wpływu związków na poziom reaktywnych form tlenu w komórkach w warunkach fizjologicznych, jak i indukowanego stresu oksydacyjnego. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane na dwóch międzynarodowych i jednej krajowej konferencji naukowej (S4-S6) oraz opublikowane w dwóch pracach naukowych (P10 oraz P8 -włączonej do osiągnięcia).

Symbol	Rok	Autorzy	Tytuł	Konferencja/Czasopismo
S4	2016	Cyboran-Mikołajczyk S., Solarska-Ściuk K., Męczarska K., Cwynar-Zajac Ł., Dziegiel P., Oszmiański J., Kleszczyńska H.	<i>Extracts from the leaves of Fragaria and Rubus protecting cardiovascular cells from oxidative damage.</i>	III międzynarodowa konferencja pt. „Rośliny Zielarskie, Kosmetyki Naturalne i Żywność Funkcjonalna. Bezpieczeństwo Żywności i Pasz”. Krosno, 12-13 maja, 2016
S5	2018	Solarska-Ściuk K., Cyboran-Mikołajczyk S., Cwynar-Zajac Ł., Rusak A., Dziegiel P., Kleszczyńska H.	<i>Zastosowanie metod fluorescencyjnych w badaniach oddziaływania barwników roślinnych z komórkami HMEC-1.</i>	III ogólnopolska konferencja naukowa „Współczesne metody analityczne w farmacji i medycynie”. Wrocław, 9 kwietnia, 2018, materiały konferencyjne, p. 38.
S6	2019	Solarska-Ściuk K., Cyboran-Mikołajczyk S., Mieszala K., Glatzel-Plucińska N.	<i>The effect of O-glycosylation on cyanidin interaction with HMEC-1 cells-structure-activity relationships.</i>	3-rd Wroclaw Scientific Meetings, 1-2 march 2019, Book of abstracts, P-106.
P14	2022	Cyboran-Mikołajczyk S., Męczarska K., Solarska-Ściuk K., Ratajczak-Wielgomas K., Oszmiański J., Jencova V., Bonarska-Kujawa D.	<i>Protection of erythrocytes and microvascular endothelial cells against oxidative damage by Fragaria vesca L. and Rubus idaeus L. leaves extracts — The mechanism of Action.</i>	<i>Molecules</i> , 27, 5865. https://doi.org/10.3390/molecules27185865 .
<i>Mój udział polegał na: zaplanowaniu wszystkich badań, przygotowaniu i przeprowadzeniu badań: toksyczności ekstraktów w odniesieniu do erytrocytów i komórek HMEC-1 (MTT, Hoechst), wpływu związków na oporność osmotyczną i kształty erytrocytów oraz płynność i uporządkowanie błony erytrocytów, aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów w odniesieniu do erytrocytów i ich błon. Wyniki tych badań zamieszczono na rysunkach 1-6 oraz w tabeli 2. Ponadto, mój udział polegał na: analizie uzyskanych danych i interpretacji wyników, wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu oraz odpowiedziach na recenzję, jako autora korespondencyjnego.</i>				

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

6.1 Osiągnięcia dydaktyczne

Zajęcia dydaktyczne

- Od **2009** roku prowadzę ćwiczenia rachunkowe oraz laboratoryjne z fizyki, fizyki z elementami biofizyki, biofizyki oraz agrofizyki dla studentów wszystkich kierunków pierwszego roku studiów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu,
- Od roku **2017** prowadzę autorskie wykłady z biofizyki oraz od 2019 z fizyki z elementami biofizyki dla studentów kierunku Biologia Człowieka i Zootechnika,
- Opracowałam wykłady (15h) oraz ćwiczenia laboratoryjne (25h) do kursu pt. „*Biologiczne skutki stresu oksydacyjnego*”, który został zatwierdzony przez Radę Programową dla kierunku Biotechnologia.
- Jestem współautorem skryptu: Sarapuk J., Kleszczyńska H., Cyboran S., (2009) „*Kurs wyrównawczy z fizyki*” do kursu wyrównawczego dla studentów kierunku Inżynieria Środowiska w ramach programu Kapitał Ludzki finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego,
- W **2009** roku prowadziłam 60 godzinny kurs wyrównawczy z fizyki w ramach projektu pt. "Program Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu dotyczący zwiększenia liczby absolwentów kierunków przyrodniczo-technologicznych o kluczowym znaczeniu dla gospodarki opartej na wiedzy" realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki.

- W **2011** roku prowadziłam 45 godzinny kurs wyrównawczy z fizyki w ramach projektu " Kierunki zamawiane Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu - Biotechnologia i Ochrona Środowiska" współfinansowanego za środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki.

Opieka nad studentami, recenzje

- **2017**, byłam promotorem pracy inżynierskiej pt. "Ochrona żywności przed szkodliwym działaniem promieniowania UV", studenta Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt, na kierunku Bezpieczeństwo Żywności (inż. Michał Matkowski), pracę obroniono w 2017 roku,
- **2021**, byłam promotorem pracy magisterskiej pt. "Czy ekstrakt z rdestowca ostrokończystego (*Reynoutria japonica Houtt*) chroni komórki erytrocytów przed stresem środowiskowym?", studentki Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt, na kierunku Biologia (mgr Oliwia Antczak), pracę obroniono w 2021 roku,
- **2023**, jestem promotorem pracy magisterskiej pt. "Badanie oddziaływania chlorowanych pochodnych 2'-hydroksychalkonu z pęcherzykami lipidowymi o różnym ładunku powierzchniowym", studentki Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, kierunku Biotechnologia, obrona pracy planowana jest na lipiec 2023 (Łucja Kordylas)
- byłam recenzentem dwóch prac magisterskich: w 2020 roku mgr Joanny Tyszer, w 2018 roku mgr Eweliny Tomaszek i jednej pracy inżynierskiej, w 2020 roku inż. Marty Dudek, studentek Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu,

6.2 Osiągnięcia organizacyjne

- w latach **2015-2019** byłam odpowiedzialna za planowanie zajęć dydaktycznych na dwóch pracowniach studenckich Katedry Fizyki i Biofizyki, układałam plany zajęć z fizyki, biofizyki i agrofizyki dla wszystkich kierunków studiów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu realizujących te przedmioty,
- w latach **2015-2019** byłam odpowiedzialna za przydziały i rozliczenie godzin dydaktycznych pracowników naukowo-dydaktycznych i dydaktycznych w Katedrze Fizyki i Biofizyki, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu,
- w latach **2015-2019** pełniłam funkcję sekretarza Komisji do Spraw Nagród i Odznaczeń Wydziału Przyrodniczo Technologicznego, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, za pracę w tej Komisji w 2019 roku zostałam wyróżniona nagrodą za działalność organizacyjną,
- **14.09.2009**, byłam organizatorem spotkania promującego zajęcia dydaktyczne w ramach projektu "Zarządzanie i inżynieria produkcji- nowa oferta edukacyjna Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu"

6.3 Osiągnięcia popularyzujące naukę lub sztukę

- **2015**, byłam współautorem i przeprowadziłam warsztaty pt. „Wszystkie kolory tęczy”, w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki,
- **2017**, byłam współautorem i przeprowadziłam warsztaty pt. „, Krwinka czerwona, krew i życie”, w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki,
- **2019**, byłam współautorem i przeprowadziłam warsztaty pt. „Krwinka czerwona w warunkach fizjologicznych i patologicznych”, w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki,
- **2022**, byłam współautorem i przeprowadziłam warsztaty pt. „Czy krwinki czerwone są kapryśnymi komórkami”, w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki,

- **2022**, byłam współautorem i przeprowadziłam dodatkowe warsztaty pt. „Czy krwinki czerwone są kapryśnymi komórkami”, dla uczniów szkoły podstawowej nr 36 im Bohaterów Westerplatte we Wrocławiu
- **2023**, jestem współautorem dwóch propozycji warsztatów pt. ”Kolec, kubek czy dysk - dlaczego krwinki czerwone zmieniają kształty?” oraz „Co Newton ma wspólnego z klockami Lego?”, zgłoszonych na tegoroczną edycję Dolnośląskiego Festiwalu Nauki
- 09.05.2014 byłam współorganizatorem warsztatów "Bio-Agro technologie przyszłości",
- 13.04.2018 współprowadziłam warsztaty z fizyki dla uczniów szkół podstawowych,

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

7.1 Podsumowanie dorobku naukowego

Mój dorobek naukowy przed doktoratem obejmował pięć publikacji w języku angielskim, w tym cztery z listy JCR. Prace te posiadają 102 punkty ministerialne a ich współczynnik IF wynosi 6.351. Ponadto, w latach 2009-2013 byłam współautorem 12 komunikatów konferencyjnych, które ukazały się w materiałach konferencyjnych i czasopismach po krajowych i międzynarodowych konferencjach. Wyniki swoich badań prezentowałam na dziewięciu konferencjach naukowych, w tym jednej polskiej, dwóch międzynarodowych i siedmiu zagranicznych m.in., brałam udział w dwóch Europejskich Kongresach Biofizycznych; w 2011 roku w Budapeszcie i 2013 roku w Lizbonie. W latach 2009-2013 brałam udział w wielu kursach i szkoleniach w tym zakończonych certyfikatami kursach: „Analiza wariancji”, „Komercjalizacja wyników badań naukowych” czy „Publikuj z Wiley w uznanych czasopismach naukowych”.

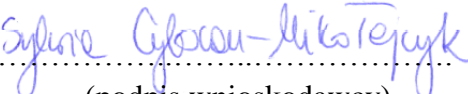
Mój dorobek naukowy po doktoracie, z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe, obejmuje 11 publikacji w języku angielskim z listy JCR oraz dwie w języku polskim, w tym jedna praca z listy B oraz rozdział w monografii. Opublikowane prace posiadają 798 punktów ministerialnych a ich współczynnik IF wynosi 37,36. Ponadto, po doktoracie byłam autorem/współautorem 41 komunikatów konferencyjnych, które ukazały się w materiałach konferencyjnych i czasopismach po krajowych i międzynarodowych konferencjach. Wyniki swoich badań prezentowałam na dwudziestu konferencjach naukowych w tym sześciu polskich, dziesięciu międzynarodowych i czterech zagranicznych, w tym brałam udział w Europejskim Kongresie Biofizycznym (2015, Drezno) oraz w konferencjach o tematyce polifenolowej (2014, Ołomuniec oraz Grodno), a także membranowej (2018, Nove Hrady). Po doktoracie brałam udział w wielu kursach i szkoleniach np. z cytometrii przepływowej z obrazowaniem (Amnis ImageStreamX Mk II), 4 dniowym kursie certyfikowanym pt. „Principles and Applications of Time-resolved Fluorescence Spectroscopy” oraz w FluoTime300 workshop.

Podsumowując, mój całościowy dorobek naukowy obejmuje 26 publikacji, w tym 24 publikacje z listy JCR oraz 1 rozdział w monografii naukowej. Ponadto, jestem współautorem 53 komunikatów konferencyjnych, w tym 7 znajdujących się na liście JCR. Łączny współczynnik *Impact Factor* publikacji których jestem współautorem wynosi 70,997, a łączna liczba cytowań tych publikacji według bazy Scopus wynosi 353 (na dzień 24.05.2023).

Badania naukowe prowadziłam w ramach 7 projektów finansowanych ze źródeł zewnętrznych; 5 projektów sponsorowanych przez NCN oraz jednego zagranicznego i jednego międzynarodowego. Byłam wykonawcą zadań w 6 projektach oraz kierownikiem i głównym wykonawcą projektu Miniatura 1.

7.2 Nagrody za działalność naukową i organizacyjną

- **2013**, uzyskałam nagrodę zespołową I stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego za cykl publikacji pt. „*Oddziaływanie związków biologicznie aktywnych z błonami biologicznymi i lipidowymi modelami błon*”,
- **2014**, wraz ze współautorami uzyskałam nagrodę za najlepszy poster pt. „*Phenolic content and composition analysis of redcurrant and cranberry extracts in relations to their antioxidant activity in erythrocyte membrane*”, VI Międzynarodowa Konferencja "Quality and Safety in Food Production Chain", Wrocław, 26-27.06.2014,
- **2015**, uzyskałam nagrodę zespołową I stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu za cykl publikacji dotyczący skutków oddziaływania związków biologicznie aktywnych z błonami biologicznymi i lipidowymi modelami błon,
- **2017**, uzyskałam nagrodę zespołową II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu za cykl publikacji pt. „*Modyfikacja właściwości fizycznych komórek oraz błon lipidowych i biologicznych przez syntetyczne i naturalne substancje biologicznie aktywne*”,
- **2019**, uzyskałam nagrodę zespołową II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu za cykl publikacji „*Wpływ potencjalnych substancji prozdrowotnych na komórki i właściwości fizyczne błon komórkowych*”,
- **2019**, wraz z zespołem uzyskałam nagrodę za wyróżniający się poster (N6) pt. „*The effect of O-glycosylation on cyanidin interaction with HMEC-1 cells – structure activity relationships*”, 3rd Wrocław Scientific Meetings, Wrocław, 1-2.03.2019,
- **2022**, uzyskałam nagrodę indywidualną Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, za osiągnięcia naukowe w latach 2019-2021,
- **2022**, wraz z zespołem uzyskałam II nagrodę za poster pt. „*Interaction of 6-methylflavanone biotransformation products with erythrocytes and their membranes*”, Międzynarodowa Konferencja pt. “Biotechnology – Research and Industrial Applications”, Wrocław, 15-16.09.2022,
- **2019**, uzyskałam nagrodę zespołową II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu za działalność organizacyjną w Wydziałowej Komisji ds. Nagród i Odznaczeń,
- **2023**, uzyskałam nagrodę zespołową I stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu za działalność organizacyjną


(podpis wnioskodawcy)