

## Streszczenie

Rokitnik zwyczajny (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) jest krzewem, którego naturalnym siedliskiem występowania są obszary nadmorskie. Rokitnik zwyczajny należy do rodziny oliwnikowatych (*Elaeagnaceae*). Jego cechą charakterystyczną jest obecność cierni. Posiada on lancetowate liście oraz intensywnie pomarańczowe owoce-jagody. Rokitnik zwyczajny jest rośliną dwupienną.

Liczne badania nad składem chemicznym różnych organów rokitnika zwyczajnego pokazują, że roślina ta jest bogatym źródłem witamin, związków fenolowych, tokoferoli, karotenoidów, aminokwasów, kwasów tłuszczowych, mikro- oraz makroelementów. Szeroki zakres doświadczeń prowadzonych na preparatach z różnych organów rokitnika zwyczajnego udowodnił działanie przeciwnowotworowe, przeciwrzodowe oraz hepatochronne tej rośliny. Ponadto, rokitnik posiada właściwości przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe.

Nadrzędnym celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena wpływu preparatów (ekstraktów, frakcji fenolowych oraz bogatych w związki niepolarne) z rokitnika zwyczajnego na stres oksydacyjny oraz hemostazę w układzie *in vitro*. Materiał badany stanowiły ekstrakty oraz frakcje z różnych organów rokitnika zwyczajnego (owoce, liście, gałązki). Materiałem biologicznym było osocze ubogo- oraz bogatopłytkowe, płytki krwi oraz krew pełna ludzka. Badania aktywności biologicznej preparatów z rokitnika zwyczajnego przeprowadzane były z zastosowaniem różnych metod, w tym metod kolorymetrycznych, metody turbidymetrycznej, koagulometrycznej oraz cytometrii przepływowej. Analizie poddano parametry oceny stresu oksydacyjnego (oznaczenie stężenia produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (TBA), oznaczenie stężenia grup karbonylowych oraz tiolowych w białkach oraz metoda opierająca się na redukcji cytochromu c) i hemostazy (pomiar czasów krzepnięcia, pomiar adhezji oraz agregacji płytek krwi, pomiar peroksydacji lipidów w płytkach krwi, pomiar ekspresji selektyny P i receptora GPIIb/IIIa na powierzchni płytek krwi oraz pomiar fosforylacji VASP).

Wykonane badania pokazują istotny wpływ ekstraktów oraz frakcji wyizolowanych z różnych organów rokitnika zwyczajnego na badane parametry. Przypuszcza się, że wyjątkowy skład chemiczny stanowi o istotnej roli rokitnika zwyczajnego na hamowanie stresu oksydacyjnego w osoczu oraz płytkach krwi np. badane preparaty istotnie hamowały peroksydację lipidów osocza traktowanego induktorami stresu oksydacyjnego. Zaobserwowano również, że związki obecne w badanej roślinie wpływają na hemostazę

osoczną – obserwowano istotny wpływ testowanych ekstraktów na wydłużenie czasu kaolinowo-kefalinowego. Przypuszcza się, że aktywność antykoagulacyjna badanych preparatów zależy od ich składu chemicznego. Ponadto, obserwuje się również wpływ licznych związków bioaktywnych obecnych w różnych organach tej rośliny, na hamowanie aktywacji płytek krwi. Zaobserwowano zmniejszoną adhezję oraz agregację płytek krwi traktowanych badanymi preparatami. Badania wykonane z wykorzystaniem cytometrii przepływowej wskazały istotne zahamowanie aktywacji płytek krwi inkubowanych z badanymi preparatami. Największe działanie biologiczne wykazuje frakcja fenolowa wyizolowana z gałązek rokitnika zwyczajnego. Frakcja ta jest bogata w proantocyjanidyny oraz katechiny.

Podsumowując, różne organy rokitnika zwyczajnego są źródłem licznych związków biologicznie czynnych. Związki te mogą w przyszłości zostać wykorzystane jako suplementy czy nowe leki w terapii chorób układu sercowo-naczyniowego.

*Bartosz Skulski*

## Summary

Sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) is a shrub whose natural habitat is coastal areas. The sea buckthorn belongs to the olive family (*Elaeagnaceae*). Its characteristic feature is the presence of thorns. It has lanceolate leaves and intense orange berries. The sea buckthorn is a dioecious plant.

Numerous studies on the chemical composition of various organs of the sea buckthorn show that this plant is a rich source of vitamins, phenolic compounds, tocopherols, carotenoids, amino acids, fatty acids, micro- and macroelements. A wide range of experiments carried out on preparations from various organs of the sea buckthorn have proved the anti-cancer, anti-ulcer and hepatoprotective properties of this plant. In addition, sea buckthorn has antibacterial and antiviral properties.

The main goal of this doctoral dissertation was to evaluate the effect of sea buckthorn preparations (extracts, phenolic fraction and rich in non-polar compounds) on oxidative stress and hemostasis in the *in vitro* system. The tested material consisted of extracts and fractions from various organs of the sea buckthorn (fruit, leaves, twigs). The biological material was platelet-poor and platelet-rich plasma, blood platelets and human whole blood. The biological activity of sea buckthorn preparations was tested using various methods, including colorimetric, turbidimetric, coagulometric and flow cytometry. The parameters of oxidative stress assessment (determination of the concentration of lipid peroxidation products with thiobarbituric acid (TBA), determination of the concentration of carbonyl and thiol groups in proteins and the method based on the reduction of cytochrome c) and hemostasis (measurement of coagulation times, measurement of adhesion and aggregation of platelets, measurement of lipid peroxidation in platelets, measurement of P-selectin and GPIIb/IIIa receptor expression on the platelet surface and measurement of VASP phosphorylation).

The performed tests show a significant influence of extracts and isolated fractions from various organs of the sea buckthorn on the tested parameters. It is assumed that the unique chemical composition constitutes a significant role of sea buckthorn in inhibiting oxidative stress in plasma and platelets, e.g. the tested preparations significantly inhibited the peroxidation of plasma lipids treated with inducers of oxidative stress. It was also observed that the compounds present in the tested plant affect plasma hemostasis - a significant effect of the tested extracts on the extension of activated partial thromboplastin time was observed. It is

presumed that the anticoagulant activity of the tested preparations depends on their chemical composition. Moreover, the effect of numerous bioactive compounds present in various organs of this plant on inhibiting the activation of platelets is also observed. Reduced adhesion and aggregation of platelets treated with the test preparations was observed. The tests performed with the use of flow cytometry showed a significant inhibition of the activation of platelets incubated with the tested preparations. The isolated phenol fraction from sea buckthorn twigs shows the greatest biological effect. This fraction is rich in proanthocyanidins and catechins.

In summary, the various organs of the sea buckthorn are the source of numerous biologically active compounds. These compounds may be used as supplements or new drugs in the future in the treatment of diseases of the cardiovascular system.

*Bartosz Skalski*