

Mniszek lekarski (*Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F.H.Wigg.) to wieloletnia roślina zielna rozpowszechniona w klimacie umiarkowanym, zwykle porastająca pastwiska i nieużytki. Przez stulecia roślina ta była wykorzystywana w medycynie ludowej wielu krajów jako środek wspomagający w leczeniu różnych dolegliwości, takich jak schorzenia wątroby, problemy trawienne, cukrzyca, stany zapalne skóry, choroby artretyczne i reumatyczne. Oprócz zastosowania jako farmaceutyk, wszystkie części rośliny (korzenie, liście, kwiaty) mogą być przetwarzane na różne produkty spożywcze – sałatki, napary, zamienniki kawy, syropy, ciasta, nalewki i wina. Obecnie korzeń i ziele mniszka są sklasyfikowane jako materiał farmakopealny i GRAS (Generally Recognized As Safe) oraz są zatwierdzone do użytku farmaceutycznego w postaci etanolowych wyciągów i naparów przez Europejską Agencję Leków oraz Federalny Urząd ds. Leków (USA).

W ciągu ostatnich 15 lat korzeń mniszka lekarskiego (*Taraxaci radix*, TR) był przedmiotem kilku badań naukowych poświęconych działaniu hamującemu na komórki rakowe; kilka różnych grup badawczych zajmowało się tym tematem, a wyniki zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych. Działanie ekstraktów *Taraxaci radix* (głównie wodnych i etanolowych) zostało przetestowane na kilku różnych typach nowotworów - piersi (MCF7), okrężnicy (HCT116, HT29), żołądka (BGC823, SGC7901), białaczce (CMML), wątroby (HepG2), czerniaku (A375, G361) oraz prostaty (LNCaP), uzyskując wyraźne efekty cytotoksyczne, jak również specyficzność dla niektórych linii komórkowych. Pomimo wielu doniesień, które badały szerokie działanie przeciwnowotworowe wyciągów z korzenia mniszka lekarskiego, aktywne składniki odpowiedzialne za obserwowaną inhibicję oraz leżące u jej podstaw szczegółowe mechanizmy pozostają jak dotąd słabo opisane/nieznane. Tylko w jednej publikacji (Ovadje i wsp. 2016), spośród wszystkich dostępnych, podjęto wysiłki w celu zidentyfikowania aktywnych składników TR hamujących nowotwory. Autorzy przypisali to działanie frakcji pentacyklicznych triterpenoidów, co ciekawe jednak, przetestowane pojedyncze składniki frakcji (α - i β -amyryna oraz lupeol) wykazały umiarkowaną/lub brak aktywności. Co więcej, biorąc pod uwagę raczej niskie poziomy triterpenoidów w korzeniu mniszka (na podstawie danych literaturowych i obserwacji własnych) oraz ich charakter chemiczny - obecne głównie jako aglikony pozbawione łańcuchów cukrowych (co utrudnia/uniemożliwia ich ekstrakcję wodą), niepewność dotycząca identyfikacji bioaktywnego składnika TR staje się jeszcze większa. Fitochemicznie korzeń mniszka lekarskiego jest złożoną mieszaniną wielu różnych produktów naturalnych; głównymi biologicznie aktywnymi składnikami TR są kwasy hydroksycynamonowe, laktony seskwiterpenowe (SLs), pentacykliczne triterpenoidy, fenylooctanowe estry inozytolu (PIE) oraz polisacharydy. Niemniej jednak systematycznie publikowane są nowe prace opisujące obecność metabolitów nieznanymi wcześniej w tym materiale roślinnym, czego przykładem jest publikacja naszego zespołu badawczego o prowizorycznej identyfikacji koniugatów SLs-prolina (Jedrejek i wsp. 2019). Ponadto, istnieją duże luki w wiedzy o ilościowej zawartości bioaktywnych metabolitów w korzeniu mniszka, nawet dla związków polifenolowych takie dane są ograniczone, a dla innych naturalnych produktów TR (SLs, pentacykliczne triterpenoidy i PIE) po prostu nie są dostępne.

Biorąc pod uwagę obiecujące działanie cytotoksyczne ekstraktów z korzenia mniszka lekarskiego w wielu opisywanych badaniach oraz niekompletność wiedzy o związkach aktywnych odpowiadających za te efekty, głównym celem projektu jest podjęcie starań celem wyróżnienia i identyfikacji rzeczywistych metabolitów TR o aktywności hamującej komórki nowotworowe. W projekcie wykorzystany zostanie ekologiczny materiał roślinny zebrany na terenie Kazimierskiego Parku Krajobrazowego. Ekstrakty i frakcje *Taraxacum* będą przygotowywane w sposób maksymalnie przyjazny dla środowiska, z wykorzystaniem 'zielonych rozpuszczalników' (głównie etanolu) oraz techniki ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami. Około 10 preparatów TR, różniących się składem, będzie przebadanych w I fazie projektu pod kątem właściwości antyproliferacyjnych, przy użyciu kilku linii komórek nowotworowych, w tym raka piersi, płuc i jajnika, a także normalnych ludzkich keratynocytów. Aby przetestować hamowanie nowotworów, zostanie zastosowana metoda luminescencyjna (test CytoTox-Glo™), w której do komórek z grupy kontrolnej i badanej nanosi się luminogenny substrat peptydowy w celu pomiaru aktywności proteaz. Wykorzystanie metabolomiki, opartej na danych LC-HR-QTOF-MS i wielowymiarowych analizach statystycznych (platforma MetaboAnalyst), pozwoli uwydatnić obecność markerów chemicznych (metabolitów) w zestawie porównywanych próbek. Następnie, do niekwestionowanej identyfikacji bio-markerów TR, jak również do weryfikacji czy obie strategie będą ostatecznie wskazywać na te same związki aktywne, zostanie zastosowana klasyczna metodyka izolacji naturalnych produktów pod kontrolą testów biologicznych. Do identyfikacji markerów chemicznych aktywnych preparatów będzie wykorzystana własna baza danych metabolitów TR oraz techniki spektroskopowe i otwarte bazy danych naturalnych związków. Luki w wiedzy o ilościowej zawartości bioaktywnych metabolitów w korzeniu mniszka oraz zmienności materiału roślinnego w cyklu rocznym, sezonowym i populacyjnym będą wypełnione przy użyciu metabolomiki ukierunkowanej i nieukierunkowanej, w oparciu o dane LC-PDA-MS/MS oraz wielowymiarowe analizy eksploracyjne i dyskryminacyjne.