

Łódź, dn. 02.08.2023 r.

Prof. dr hab. inż. Elżbieta Łodyga-Chruścińska (emeryt)

Politechnika Łódzka

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

ul. Wólczańska 171/173, 90-530 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Ilony Trzcńskiej

p.t.: „Badania oddziaływań kwasu cynamonowego i jego pochodnych z  $\alpha$ - i  $\beta$ -cyklodekstryną w wodzie”

wykonanej w Zakładzie Chemii Biofizycznej, Katedry Chemii Fizycznej Uniwersytetu Łódzkiego

Promotor pracy: prof. dr hab. Bartłomiej Pałecz.

Promotor pomocniczy: dr hab. Adam Buczkowski

Zespół Prof Bartłomieja Pałecza od wielu lat prowadzi badania termodynamiczne mające na celu ustalenie wzajemnych oddziaływań naturalnych cyklodekstryn z różnymi substancjami biologicznie czynnymi, znajdującymi zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym oraz spożywczym. Niniejsza rozprawa doktorska wpisuje się w tę tematykę badawczą.

### 1. Przedmiot i zakres pracy

Kwasy fenolowe należą do najbardziej rozpowszechnionych roślinnych związków fenolowych obecnych w postaci wolnej, sprzężonej rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej związanej. Kwasy fenolowe występują we wszystkich grupach żywności i występują obficie w zbożach, roślinach strączkowych, roślinach oleistych, owocach, warzywach, napojach i



ziołach. Mogą wywierać działanie przeciwutleniające, między innymi poprzez wychwytywanie rodników hydroksylowych, anionów rodników nadtlenkowych, kilku rodników organicznych, rodników nadtlenowych, peroksyazotynów i tlenu singletowego. Ponadto kwasy fenolowe są ważnymi związkami zmieniającymi szlaki sygnalizacji komórkowej. Dzięki właściwościom prozdrowotnym związki z tej grupy znalazły zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym oraz spożywczym. Dlatego też Autorka tej rozprawy wybrała jako przedmiot swoich badań oddziaływanie wybranych kwasów fenolowych z  $\alpha$ - i  $\beta$ -cyklodekstryną. Taki wybór jest jak najbardziej uzasadniony ponieważ cząsteczki o określonych właściwościach biologicznych muszą być zdolne do dotarcia do miejsca działania bez utraty integralności i do przejścia przez błonę lipofilową. Roślinne związki bioaktywne mają ograniczone zastosowanie jako produkty farmaceutyczne, gdyż mają ograniczoną rozpuszczalność w wodzie, słabą biodostępność i mogą być łatwo modyfikowane przez czynniki środowiskowe, takie jak temperatura, pH i światło. Kwasy fenolowe należą do metabolitów wtórnych, które ze względu na swoje właściwości wykazują pozytywny wpływ na ludzkie zdrowie, poprzez eliminowanie nie tylko reaktywnych form tlenu ale także wspomaganie enzymów wykazujących właściwości przeciwutleniające oraz chelatowanie jonów metali (żelaza, miedzi). W ten sposób organizm człowieka może być chroniony przed stresem oksydacyjnym, a co za tym idzie, przed rozwojem takich chorób, jak miażdżyca naczyń i zmiany nowotworowe. Cyklodekstryny mogą służyć jako nośniki do ochrony kwasów fenolowych przed szkodliwym wpływem środowiska ze względu na ich zdolność do zamykania cząsteczek w procesie obejmującym tworzenie kompleksów inkluzyjnych. To z kolei może przyczynić się do pełniejszego i skuteczniejszego wykorzystania potencjału prozdrowotnego, leczniczego oraz odżywczego tych trudno rozpuszczalnych związków w środowisku wodnym.

Doktorantka za obiekty do swoich badań wybrała kwas cynamonowy oraz cztery jego pochodne kwas p-kumarowy, kawowy, ferulowy i synapinowy. . Postawiła sobie za główny cel dysertacji poznanie mechanizmów tworzenia kompleksów inkluzyjnych  $\alpha$ -cyklodekstryny (C-CD) i  $\beta$ -cyklodekstryny ( $\beta$ -CD) z wyżej wymienionymi kwasami. Praca

ma charakter doświadczalny. Autorka wyznaczyła stechiometrię i stałe tworzenia powstałych kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z kwasami fenolowymi wykorzystując pomiary spektroskopowe. Wyniki tych pomiarów wykorzystywała również do określenia wpływu cyklodekstryn na rozpuszczalność kwasów w wodzie.

Parametry termodynamiczne: zmiany entalpii (AH), entropii (AS) jak również zmiany entalpii swobodnej (AG) charakteryzujące oddziaływania  $\alpha$ -cyklodekstryny i  $\beta$ -cyklodekstryny z kwasem cynamonowym i jego pochodnymi w roztworach wodnych wyznaczyła przeprowadzając serie miareczkowań kalorymetrycznych w izotermicznym kalorymetrze do miareczkowań MicroCal VP-ITC. Natomiast w kalorymetrze nieizotermiczno — nieadiabetycznym przeprowadziła pomiary mające na celu wyznaczenie entalpii rozpuszczania wybranych soli sodowych pochodnych kwasu cynamonowego w wodzie oraz wodnych roztworach mocznika w temperaturze 298.15 K. Z kolei badania wolumetryczne wodnych roztworów soli sodowych kwasów fenolowych umożliwiły określenie wartości pozornych objętości molowych a dalsza ich analiza do wyznaczenia cząstkowych objętości molowych badanych związków.

Całość rozprawy obejmuje rozdziały: wprowadzenie i cel badań, część teoretyczną, część doświadczalną i omówienie wyników oraz posumowanie, streszczenie, cytowaną literaturę oraz załączniki zawierające zestawienia wyników w formie tabel i rysunków. Rozdział 1 stanowi wprowadzenie w problematykę pracy. Autorka krótko uzasadnia celowość podjętych przez nią badań. Rozdział 2 to przegląd literatury dotyczący aktualnego stanu wiedzy o obiektach, które są przedmiotem badań doktorantki a więc ogólnych właściwościach fizykochemicznych wody, cyklodekstryn, wybranych kwasów fenolowych oraz parametrów termodynamicznych, które zostały przez Autorkę scharakteryzowane w tej pracy. W części doświadczalnej pracy omówiono aparaturę i metodykę pomiarów. W tym rozdziale zostało również zawarte teoretyczne uzasadnienie wyboru zastosowanych metod obliczeniowych i

pomiarowych w wyznaczeniu efektów energetycznych towarzyszących tworzeniu się kompleksów inkluzyjnych w układach zawierających cyklodekstryny i kwasy fenolowe oraz ich stechiometrii jak i wartości stałych tworzenia.

W Rozdziale 4, decydującym w dużym stopniu o wartości pracy, przedstawiono wyniki i ich interpretację. W tym rozdziale zabrakło pewnej dyskusji w odniesieniu do najnowszych informacji naukowych w zakresie problematyki będącej przedmiotem niniejszej rozprawy.

Na zakończenie przedstawiono podsumowanie i w tym rozdziale Autorka powinna również dodać kilka istotnych wniosków wynikających z badań przez nią przeprowadzonych.

Pracę zamyka dorobek naukowy doktorantki złożony z trzech publikacji w tym jednej związanej z pracą doktorską oraz jej udział w 24 konferencjach w formie wystąpień ustnych i posterowych.

## 2. Ocena meritorna racji i oślnie

Problematyka pracy doktorskiej mgr Ilony Trzcńskiej dotyczy badań fizykochemicznych, pozwalających otrzymać termodynamiczną charakterystykę oddziaływań  $\alpha$ - i  $\beta$ -cyklodekstryny z kwasem cynamonowym i jego pochodnymi (kwas  $p$ -kumarowy, kwas kawowy, kwas ferulowy i kwas synapinowy) w środowisku wodnym. Analiza wyznaczonych parametrów termodynamicznych jest poparta dobrze udokumentowanym materiałem doświadczalnym. Autorka udowodniła, że dla wszystkich pięciu badanych kwasów fenolowych proces ich inkludowania przez  $\alpha$ -cyklodekstrynę i  $\beta$ -cyklodekstrynę jest egzotermiczny ( $\Delta H < 0$ ) i termodynamicznie samorzutny ( $\Delta G < 0$ ). Analizując stałe tworzenia kompleksów i parametry termodynamiczne stwierdziła, że silniejsze oddziaływania z mniej podstawionymi pochodnymi kwasu cynamonowego występują w  $\alpha$ -cyklodekstrynie, co może świadczyć o lepszym dopasowaniu przestrzennym tych kwasów we wnętrzu tego makrocyklu. Wysokie wartości stałych kompleksowania ( $K > 1000$ ) wszystkich pięciu badanych kwasów fenolowych przez  $\alpha$ -cyklodekstrynę i dwóch kwasów: ferulowego (FER) i synapinowego (SIN) przez  $\beta$ -cyklodekstrynę w środowisku wodnym, wskazują na ich wydajne

kompleksowanie i możliwość wykorzystania ot- i P-cyklodekstryny jako nanonośników zwiększających rozpuszczalność a tym samym biodostępność kwasu cynamonowego i jego pochodnych. Może to przyczynić się do pełniejszego i skuteczniejszego wykorzystania potencjału prozdrowotnego, leczniczego oraz odżywczego tych trudno rozpuszczalnych związków w środowisku wodnym. Doktorantka poszerzyła swoje badania przeprowadzając serię pomiarów densymetrycznych, które wykorzystywała do wyznaczenia pozornych objętości molowych  $V(b)$ . Stwierdziła, że istotnymi czynnikami wzrostu wartości granicznej objętości molowej jest obecność grup funkcyjnych  $-OH$  i  $-OCH_3$  a także usytuowanie grupy hydroksylowej względem grupy  $-COOH$ .

### 3. Ocena formalna rac uwa i szcze ólowei tania do Doktorantki

Układ pracy, wybór rysunków, wykresów i tabel oraz sposób w jaki zostały zrealizowane jest poprawny. Doktorantka doskonale wywiązała się z zadań badawczych, które przed nią stały. Praca napisana jest poprawną polszczyzną chociaż nie uniknęła drobnych błędów, np. str. 98 zamiast trudno rozpuszczalnych pojawiło się: „trudnorozpuszczalnych”

Moje zastrzeżenia i pytania są następujące:

- W Rozdziale 4 zabrakło pewnej dyskusji w odniesieniu do najnowszych informacji naukowych w zakresie problematyki będącej przedmiotem niniejszej rozprawy, np. porównanie otrzymanych wyników z wynikami innych badaczy, np. badających enkapsulację kwasów fenolowych.
- Czym spowodowany jest wzrost egzotermicznych entalpowych współczynników oddziaływania par pomiędzy zdysocjowaną cząsteczką kwasu z cząsteczką mocznika ?
- Jakiego typu mogą to być oddziaływania na poziomie molekularnym ?
- Jakie zastosowanie mają wartości granicznej pozornej objętości molowej ? Czy można je wykorzystać w modelu hydratacji danego związku chemicznego ?
- Jakie istotne wnioski wynikają z badań przeprowadzonych przez Autorkę ?

#### 4. Wniosek końcowy

Opiniowana rozprawa doktorska mgr Ilony Trzcńskiej p.t.: „Badania oddziaływań kwasu cynamonowego i jego pochodnych z a- i p- cyklodekstryną w wodzie” stanowi oryginalne opracowanie złożonego zagadnienia i wnosi uzupełnienie wiedzy w zakresie mechanizmów towarzyszącym procesom inkluzji w cyklodekstrynach. Jednocześnie uzyskane wyniki mogą przyczynić się do pełniejszego i skuteczniejszego wykorzystania potencjału prozdrowotnego, leczniczego oraz odżywczego trudno rozpuszczalnych kwasów fenolowych w środowisku wodnym.

Doktorantka osiągnęła zamierzony cel, a sposób jego realizacji — pomimo uwag krytycznych, wskazuje na umiejętność prowadzenia prac badawczych i analizy wyników badań. Doktorantka wykazała się znajomością różnych technik badawczych oraz ogólną wiedzą w zakresie fizykochemii układów złożonych z kwasu cynamonowego, jego wybranych pochodnych i cyklodekstryn. W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Ilony Trzcńskiej spełnia warunki określone w ustawie o tytułach i stopniach naukowych i stawiam wniosek o jej przyjęcie oraz dopuszczenie Autorki pracy do publicznej obrony.

zoda, dn. 02.08.2023  
E. Zocycy-Chciska