

Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz  
Wydział Farmaceutyczny

Łódź, 14.08.2023

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**Mgr Ilony Trzcińskiej**

**z tytułu:**

***„Badania oddziaływań kwasu cynamonowego i jego pochodnych  
z  $\alpha$ - i  $\beta$ -cyklodekstryną w wodzie”***

złożonej do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pani mgr chemii Ilony Trzcińskiej została wykonana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Bartłomieja Pałeczka i promotora pomocniczego dr hab. Adama Buczkowskiego w Zakładzie Chemii Biofizycznej, Katedry Chemii Fizycznej, Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego.

Zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U z 2003 r. Nr 65, poz. 595) *”Rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką promotora, powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub artystycznego oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej”*, dlatego zgodnie z uchwałą Komisji Uniwersytetu Łódzkiego o powołaniu mnie na Recenzenta wyżej wymienionej rozprawy mam zaszczyt przedstawić poniżej swoją opinię dotyczącą tych właśnie aspektów dysertacji.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska dotyczyła badania oddziaływań wybranych pochodnych kwasu cynamonowego z cyklodekstrynami. Kwas cynamonowy i jego pochodne tj. kwas p-kumarowy, kwas kawowy, ferulowy, synapinowy to interesująca grupa związków ze względu na to, że są składnikami roślin, które powstają w procesie

metabolizmu między innymi fenyloalaniny i tyrozyny. Kwasy te można znaleźć w szpinaku, pietruszce, winogronach, rabarbarze, a także w owsie, życie i jęczmieniu. Występują w nasionach i liściach zarówno w postaci wolnej, jak i kowalencyjnie związanej z ligniną i innymi biopolimerami.

Wszystkie wybrane do badań kwasy wykazują właściwości zwalczania reaktywnych form tlenu (ROS, *ang. Reactive Oxygen Species*) lub rodników azotowych jak również stwierdzono, że są odpowiedzialne za chelatowanie metali przejściowych, takich jak Cu(II) lub Fe(II). Ich właściwości antyoksydacyjne związane są z obecnością podstawnika hydroksylowego związanego z pierścieniem fenyłowym. Badania wykazały, że zastosowanie np. kwasu ferulowego na skórę przed ekspozycją na promieniowanie UV zapobiega uszkodzeniu DNA oraz reguluje ekspresję genów naprawczych, wywiera wpływ na angiogenezę, wpływając na aktywność głównych czynników w nim uczestniczących, tj. na czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) oraz płytkowy czynnik wzrostu (PDGF). Kwas ferulowy znacząco zmniejsza również aktywację MMP-2 i MMP-9 pod wpływem promieniowania UVB, które są odpowiedzialne za proces fotokancerogenezy. Z kolei kwas kawowy spowalnia proces starzenia, działa ochronnie na skórę broniąc ją przed szkodliwym działaniem promieni słonecznych, które powodują degradację włókien kolagenu i elastyny.

Wybór przez Doktorantkę zarówno substancji biologicznie aktywnych o interesujących właściwościach farmakologicznych jak i ich nośników, które wpływają na wzrost rozpuszczalności, wskazuje na dobre rozpoznanie przez Autorkę, literatury, które może przyczynić się do szerszego zastosowania badanych kwasów w lecznictwie i kosmetologii.

Poważnym problemem z jakim boryka się przemysł farmaceutyczny jest rozpuszczalność związków lipofilnych w wodzie. Zaproponowane przez Doktorantkę nośniki leków – cyklodekstryny są od wielu lat stosowane w przemyśle farmaceutycznym. Stosuje się je przede wszystkim w celu zwiększenia rozpuszczalności w wodzie, modyfikacji leków, co skutkuje zwiększeniem biodostępności, zwiększeniem stabilności w fazie stałej, zwiększeniem absorpcji po podaniu doustnym, doodbytniczym czy transdermalnym. W przypadku leków dermatologicznych zastosowanie cyklodekstryn skutkuje zredukowaniem lokalnych podrażnień dermalnych.

Pani Magister do swoich badań jako substancje nośnikowe wybrała  $\alpha$ -cyklodekstrynę i  $\beta$ -cyklodekstrynę, Dla większości cząsteczek organicznych optymalna pod względem wielkości jest  $\beta$ -cyklodekstryna. Jednakże jak wskazują liczne badania, jej wadą jest najslabsza rozpuszczalność w wodzie co ogranicza jej wykorzystanie jako nośnika.

Rozprawa doktorska jest rozprawą klasyczną, która powstała na podstawie przeprowadzonych eksperymentów. Co prawda od wielu lat często spotyka się rozprawy doktorskie tylko na podstawie publikacji jednakże taka forma rozprawy doktorskiej jaką zaprezentowała Autorka jest również akceptowana. Część wyników badań została opublikowana w formie jednej publikacji, jednakże czasopismo to nie posiada indeksu oddziaływań. Pani mgr chemii Ilona Trzcińska jest autorką dwóch publikacji o łącznym IF = 4,1 oraz 27 doniesień zjazdowych na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych, gdzie w 24 prezentacjach były to wystąpienia ustne. Prezentacje na konferencjach świadczą o imponującej aktywności naukowej i umiejętności poszukiwania ciekawych tematów badawczych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy 159 stronach maszynopisu i cechuje się starannością językową i edytorską. Zawiera wykaz stosowanych skrótów oraz typowe rozdziały takie jak: **Wstęp** (str. 6-8), **Część teoretyczną** (str.9-40), **Część eksperymentalną** (str.41-57), **Omówienie wyników** (str. 58-92), **Podsumowanie**, **Streszczenie**, **Abstrakt** w języku polskim i angielskim, **Bibliografię**. Dodatkowo Doktorantka załączyła **Załączniki** zawierające tabele i wykresy z przeprowadzonych eksperymentów. Każda z tych części zawiera podrozdziały, w których Autorka w sposób nie budzący wątpliwości twórczo rozwinęła poruszane zagadnienia. Należy zauważyć, że Doktorantka zachowała właściwe proporcje między poszczególnymi rozdziałami.

Ważnym elementem pracy było określenie we **Wstępie** celów pracy. Zostały one sformułowane w tekście ja pozwoliłam sobie na sformułowanie ich w sposób następujący:

1. Zbadanie tworzenia się kompleksów inkluzyjnych kwasu cynamonowego oraz czterech jego pochodnych z cyklodekstrynami.
2. Pomiary spektroskopowe rozpuszczalności pozwalające na ocenę rozpuszczalności związków w zależności od wzrastającego stężenia nośników.

3. Wyznaczenie stechiometrii oraz stałych tworzenia kompleksów inkluzyjnych, molowej entalpii, entropii i entalpii swobodnej na podstawie techniki izotermicznego miareczkowania kalorymetrycznego.
4. Badanie właściwości wodnych i wodnych roztworów mocznika zawierających sole sodowe badanych kwasów. Wyznaczenie entalpowych współczynników oddziaływania.
5. Przeprowadzenie badań densymetrycznych wodnych roztworów soli sodowych wybranych kwasów w szerokim zakresie temperatur.

Wyniki badań zostały szeroko omówione w rozdziale **Omówienie wyników**, w którym Doktorantka przedyskutowała rezultaty eksperymentów. Na podstawie metod spektroskopowych stwierdziła, że dla większości kompleksów stwierdzono stechiometrię 1:1 cyklodekstryna : ligand. W zależności od struktury cząsteczki ligandu zaobserwowała 20-krotny (kwas kawowy i ferulowy) lub nawet 30-krotny wzrost rozpuszczalności dla kwasu synapinowego. Mniejszy wzrost rozpuszczalności dla kwasu cynamonowego (6,5-krotny) oraz kwasu p-kumarowego (9-krotny) wskazuje, że makrocykl  $\alpha$ -cyklodekstryna preferuje wiązanie kwasów fenolowych bardziej podstawionych i rozbudowanych sterycznie. Odmienne wyniki otrzymano dla  $\beta$ -cyklodekstryny. Zaobserwowano tylko 2- lub 3-krotny wzrost rozpuszczalności, co wynika z gorszego dopasowania rozmiaru cząsteczki kwasów fenolowych z większą wnęką  $\beta$ -cyklodekstryny. Wyniki te zostały potwierdzone za pomocą wartości stałych kompleksowania, które dla  $\alpha$ -cyklodekstryny mieściły się w granicach  $K = 383-646$ , a dla  $\beta$ -cyklodekstryny  $K = 78-332$ .

Z dużą starannością Doktorantka przedstawiła wszystkie badania, które zostały dobrze zaplanowane i z konsekwencją wykonane. Na uwagę zasługuje fakt, że w tym rozdziale Doktorantka krytycznie i wnikliwie dyskutuje własne wyniki, odnosząc się do wyników reprezentowanych w literaturze.

Szerokie badania fizykochemiczne pozwoliły ustalić zarówno stechiometrię kompleksów jak również wpływ struktury badanych związków na interakcję z nośnikiem leku. Uważam za niezwykle istotne wybór tematyki badań ze względu to, że wybrane do doktoratu związki fenolowe odgrywają ważną rolę w wielu dziedzinach. W mojej opinii

Doktorantka dobrze zaplanowała badania naukowe, cele pracy zostały dobrze sformułowane, badania przeprowadziła rzetelnie i poprawnie zinterpretowała wszystkie wyniki.

Rozdział zatytułowany **Podsumowanie** wskazuje na logiczny tok myślenia i potwierdza dojrzałość naukową Autorki, jej dużą wiedzę w zakresie prowadzonych badań i dobre przygotowanie merytoryczne. Doktorantka wykazała duże umiejętności eksperymentalne (syntetyczne i analityczne), zdolność właściwego planowania eksperymentów i krytyczne podejście w ich interpretacji.

Piśmiennictwo zawiera 118 aktualnych pozycji literaturowych, z których około 25 tytułów ma nie więcej niż 15 lat i są one dobrze dobrane jak również cytowane zgodnie z pojawianiem się w tekście pracy. Część piśmiennictwa jest zdecydowanie starsza. Znajduje się również praca z XIX wieku.

Jednakże ze względu na swoją rolę jako Recenzenta pozwolę sobie na uwagi krytyczne, które oczywiście nie umniejszają osiągnięć i wartości merytorycznej pracy:

1. Cele powinny być ujęte w punktach, co w znakomity sposób ułatwiłyby informację czy osiągnęła Pani wszystkie zamierzone cele.
2. Brak mi przede wszystkim wypunktowanych wniosków z przeprowadzonych przez Panią eksperymentów. Umieszczenie ich w **Podsumowaniu** powoduje, że giną w całym tekście.

### **Podsumowanie i wnioski końcowe**

Uwzględniając w ocenie merytoryczną i poznawczą wartość pracy w wymiarze naukowym oraz staranne przygotowanie jej pod względem redakcyjnym uważam, że całkowicie spełnia ona wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U. 2003 r. numer 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) o Tytułach Naukowym i Stopniach Naukowych. Na tej podstawie zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie **mgr chem. Ilonie Trzcńskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz