

mgr inż. Sebastian Balicki
Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny
Zakład Technologii Organicznej i Farmaceutycznej

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Otrzymywanie polifenolowo-polisacharydowych koniugatów pochodzenia roślinnego o potencjale prozdrowotnym wspomagane wybranymi czynnikami fizycznymi

Głównym założeniem rozprawy doktorskiej było zmodyfikowanie i zoptymalizowanie istniejącego procesu izolowania makrocząsteczkowego produktu roślinnego, o właściwościach antykoagulacyjnych wobec osocza krwi ludzkiej, z ziela przymiotna kanadyjskiego. Celem przewodnim zrealizowanej pracy było zredukowanie czasu trwania wieloetapowej procedury otrzymywania bioproduktu oraz możliwe zwiększenie jego aktywności biologicznej i/lub selektywności. Było to możliwe do osiągnięcia poprzez zastosowanie czynnika fizycznego na wstępnym etapie procesu izolowania, w formie ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami bądź mikrofalami. Dysertacja skupia się na określeniu wpływu wykorzystania czynników fizycznych (wspomagających wstępną ekstrakcję) na wydajność prowadzonego procesu, na zmianę charakteru chemicznego otrzymanych bioproduktów, jak i na ich właściwości biologiczne, w tym mechanizmy działania.

Część teoretyczna pracy doktorskiej zawiera przegląd literaturowy, prezentujący obecny stan wiedzy w dziedzinach związanych z głównymi aspektami dysertacji. Przedstawiony został m. in. podział i charakterystyka polisacharydów pochodzenia roślinnego, będących elementem budulcowym ścian komórkowych roślin. Ponadto opisane zostały najważniejsze koniugaty jakie tworzą polisacharydy roślinne z innymi substancjami, ze szczególnym uwzględnieniem glikokoniugatów polifenolowych oraz ich właściwości prozdrowotnych. Dalsza część przybliży konwencjonalne oraz współczesne techniki pozyskiwania glikokoniugatów pochodzenia roślinnego, z uwzględnieniem nowoczesnych technik wykorzystujących wspomaganie czynnikami fizycznymi. Ostatni rozdział części teoretycznej omawia najważniejsze zagadnienia związane z projektowaniem i optymalizacją procesów technologicznych, z wykorzystaniem współczesnych technik obliczeniowych z zakresu m. in. metodologii powierzchni odpowiedzi (z ang. *Response surface methodology*).

Część eksperymentalna przedstawia opis badań własnych wykonanych przez doktoranta w ramach rozprawy doktorskiej, oraz ich wyników wraz z omówieniem. W pierwszej kolejności opisany został materiał badawczy – przymiotno kanadyjskie (*Erigeron canadensis*) - wraz z podstawową charakterystyką oraz przedstawieniem rezultatów konwencjonalnego procesu ekstrakcji dwufazowej w środowisku alkalicznym. Posłużyło to za punkt wyjścia do dalszej części badań, tj. wprowadzenia czynników fizycznych wspomagających proces ekstrakcji oraz jego optymalizację. Miało to na celu zaproponowanie takich warunków ekstrakcji, które znacznie skrócą lub uproszą całościowy proces pozyskiwania bioproduktów z przymiotna kanadyjskiego oraz uczynią go bardziej ekonomicznym i przyjaznym dla środowiska, jednocześnie nadal oferując atrakcyjny pod

względem właściwości biologicznych produkt. Kolejne rozdziały opisują wyniki badań związane z przeprowadzeniem szeregu ekstrakcji wspomaganych ultradźwiękami lub mikrofalami w zmiennych parametrach mocy, czasu oraz temperatury. Otrzymana w ten sposób gama surowych ekstraktów z przymiotna kanadyjskiego została poddana podstawowym analizom – wyznaczone zostały wydajności ekstrakcji z suchej masy roślinnej, zmierzono wartość pH wodnych ekstraktów oraz została określona *in vitro* ich aktywność antykoagulacyjna względem osocza krwi. Uzyskane wyniki badań umożliwiły w dalszej części pracy zaproponowanie modelu obliczeniowego dla optymalizacji procesów ekstrakcji wspomaganej. Efektem czego było wyznaczenie warunków optimum przy zastosowaniu metodologii powierzchni odpowiedzi (RSM) dla ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami oraz mikrofalami. Pozwoliło to na wyselekcjonowanie potencjalnie najlepszych ekstraktów z przymiotna kanadyjskiego pod względem aktywności biologicznej (nie gorszej niż ekstrakty uzyskane w sposób konwencjonalny) oraz wydajności samego procesu. W dalszej części badań własnych wybrane surowe ekstrakty zostały poddane oczyszczaniu na drodze wieloetapowego procesu, głównie z wykorzystaniem szeregu ekstrakcji dwu-fazowych w rozpuszczalnikach organicznych. W rozdziale poświęconym oczyszczaniu wybranych ekstraktów, opisane zostały również wyniki badań dotyczące podstawowej charakterystyki chemicznej oczyszczonych bioproduktów oraz została zweryfikowana ich aktywność antykoagulacyjna. Na tej podstawie wybrane zostały dwa, potencjalnie najatrakcyjniejsze, produkty roślinne uzyskane na drodze zmodyfikowanego procesu izolowania, z wykorzystaniem ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami oraz mikrofalami. Ostatni rozdział opisujący badania własne przedstawia prace związane z rozdzieleniem na homogenne frakcje uzyskanych najlepszych produktów. Produkty te oraz ich rozdzielone frakcje zostały ponownie ocenione pod kątem aktywności antykoagulacyjnej *in vitro*. Ponadto, na wybranych enzymach kaskady krzepnięcia krwi, zostały określone ich mechanizmy działania. Finalnie dla obu najlepszych produktów oraz ich frakcji przeprowadzono szczegółową analizę chemiczną technikami kolorymetrycznymi (UV-Vis), chromatograficznymi (GC-MS, szacowanie mas cząsteczkowych techniką GPC) oraz spektroskopowymi, tj. FT-IR, ^1H NMR oraz $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HSQC NMR.

Wszystkie wyniki uzyskane w trakcie badań przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej zostały podsumowane. Szczególny nacisk został położony na możliwość uzyskania, w sposób ekonomiczniejszy i bardziej przyjazny środowisku, atrakcyjnego pod względem aktywności biologicznej i selektywności w działaniu bioproduktu z przymiotna kanadyjskiego, w porównaniu do produktu pozyskanego w sposób konwencjonalny.