



UNIVERSITAS  
OPOLIENSIS

Katedra Chemii Analitycznej i Ekologicznej

WYDZIAŁ CHEMII, UNIWESYTET OPOLSKI

ul. Oleska 48, 45-052 Opole, Poland

tel. +48 077-4527115

kchaie@uni.opole.pl, www.kchaie.uni.opole.pl

Opole 12 września 2019

dr hab. Jacek Lipok, prof. UO

#### OCENA

Pracy doktorskiej Pani mgr Marty Dąbrowskiej

p.t.: „*Optymalizacja właściwości fizykochemicznych oraz aplikacyjnych formułacji kosmetycznych zawierających wybrane glikozydy irydoidowe*”

przygotowanej w Pracowni Chemii Stosowanej Wydziału Chemii

Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,

pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Izabeli Nowak

Rosnące wymagania formalne wobec kosmetyków jako preparatów chemicznych codziennego użytku oraz rozbudzona świadomość i oczekiwania użytkowników tych substancji w sferze efektywności działania, a także jak najbardziej naturalnego składu chemicznego, są istotnym przyczynkiem rozwoju przemysłu kosmetycznego. Szczególnie sprawnie wykorzystywane są wszelkie nowe osiągnięcia naukowe i technologiczne, które mogą być użyteczne w wytwarzaniu preparatów podkreślających urodę, a przy tym działających prozdrowotnie. Ze względu na złożony charakter chemiczny współczesnych formułacji kosmetycznych, których celem działania jest korzystny dla użytkownika wpływ na przebieg procesów fizjologicznych, wspomniany obszar badań jest w równym stopniu atrakcyjny poznawczo, co aplikacyjnie.

Takie właśnie walory posiada tok badań i przygotowana na jego podstawie dysertacja doktorska Pani mgr Marty Dąbrowskiej, która celem swoich wysiłków uczyniła stworzenie, w racjonalny sposób, stabilnych i efektywnie działających formułacji kosmetycznych zawierających naturalne glikozydy irydoidowe: aukubinę lub katalpol, a następnie podjęła się optymalizacji wybranych właściwości fizykochemicznych tych formułacji, w kierunku poprawy korzystnych cech tych preparatów. Warto nadmienić, że Doktorantka nie ograniczyła się do jedynie teoretycznych rozważań dotyczących pozytywnych efektów optymalizacji składu stworzonych kosmetyków, ale sprawdziła słuszność przyjętych koncepcji w toku testów *in vivo*, na grupie osób reprezentujących docelowych użytkowników.

Mnogość wątków badawczych i bogaty zestaw uzyskanych wyników zostały zaprezentowane w formie dysertacji o klasycznej kompozycji, odpowiadającej przyjętej przez Autorkę konwencji; najpierw omówieniu obszaru badań i wskazaniu wybranych zagadnień, a następnie relacji toku badań oraz dyskusji ich rezultatów. W warstwie merytorycznej rozprawę rozpoczyna wykaz licznych skrótów

stosowanych przez Autorkę, który poprzedza: spis treści, syntetyczny wstęp i część literaturową. Po wprowadzeniu czytelnika w meritum problematyki badań, Doktorantka formułuje cel, objaśnia stosowane procedury badawcze, po czym koncentruje się na omówieniu i dyskusji wyników przeprowadzonych doświadczeń. Merytoryczną część dysertacji zamyka rozdział „Podsumowanie i wnioski”, który zawiera rekapitulację wybranych przez Autorkę wątków, podkreślający walory poznawcze i aplikacyjne niniejszej dysertacji. Kończącą część tego opracowania stanowią: streszczenia w języku polskim i angielskim, zestawienie dorobku naukowego Autorki, wraz z informacją o Jej uczestniczeniu w projekcie badawczym i stażach naukowych, informacja o stosownej uchwale komisji bioetycznej, wzory formularzy ankiet związanych z aplikacją opracowanych formułacji oraz wykaz cytowanej literatury. Wszystkie zawarte w rozprawie informacje, w tym 18 tabel i 69 rysunków zawierających w większości graficzną prezentację danych, ujęto na 167 stronach. Relacje wielkości poszczególnych partii merytorycznych; części literaturowej, prezentacji stosowanych metod i procedur badawczych oraz omówienia wyników, jednoznacznie wskazują na eksperymentalny charakter badań Pani mgr Marty Dąbrowskiej. Warto zauważyć, że rozprawa została przygotowana z dbałością o szatę graficzną, co jest rezultatem profesjonalnego składu tekstu oraz właściwej aranżacji tabel i rysunków. Na przejrzystość prezentacji wyników wpływają także stosowne podsumowania częściowe, wieńczące omówienie poszczególnych wątków prowadzonych badań.

Odnosząc się do zawartości merytorycznej wybranych rozdziałów ocenianej dysertacji, chciałbym zauważyć, że Doktorantka wykorzystwała część literaturową głównie do zaznajomienia czytelnika z zakresem prowadzonych badań i podstawami zagadnień metodologicznych, co w przypadku tak wielowątkowej pracy jest dobrym rozwiązaniem. Nie znalazłem jednak jednoznacznych informacji, które pozwoliłyby na zorientowanie się, na ile tworzenie formułacji kosmetycznych zawierających lipofilowe nanocząstki inkorporowane pochodnymi irydoidów, albo innymi naturalnymi substancjami aktywnymi, jest już postępowaniem standardowym, czy raczej wciąż jest nowością. Krótka wzmianka na ten temat, którą znalazłem w ostatnim akapicie na str. 31, z pewnością nie wyczerpuje tego zagadnienia. Byłbym zatem wdzięczny, gdyby Autorka zechciała odnieść się do tej kwestii.

Wspomniany już, wielowątkowy charakter badań przeprowadzonych przez Panią mgr Martę Dąbrowską sprawił, że sformułowanie celu tych działań nie było sprawą prostą. Potwierdza to także sposób prezentacji tego zagadnienia, z wyszczególnieniem ośmiu (8) grup zadań badawczych wiodących do osiągnięcia założonego efektu. Mnogość tych zadań oraz stopień złożoności niektórych spośród wymienionych, pozwala w pełni zorientować się jak poważne było wyzwanie podjęte przez Autorkę i jakich nakładów pracy wymagało. Jednak wśród podanych informacji brakuje wyraźnego określenia, w jakim kierunku optymalizowano właściwości fizykochemiczne oraz aplikacyjne formułacji kosmetycznych, a także jaki finalny efekt tych modyfikacji Doktorantka uznaje za wiodący cel swoich naukowych wysiłków.

Pewną wskazówką jest uważna lektura rozdziału zatytułowanego „Metodyka pracy”, w którym znajdują się szczegółowe informacje dotyczące stosowanych procedur, z których część, co warto podkreślić, Autorka osobiście opracowała. W rozdziale tym nieco zaskakuje kolejność podrozdziałów poświęconych odpowiednio: przygotowaniu badanych formułacji kosmetycznych – podrozdział 6,



ocenie m.in. ich stabilności – podrozdział 7, optymalizacji składu dyspersji nanocząstek lipidowych – podrozdział 8 i dopiero teraz – podrozdział 9 poświęcony procedurom przygotowania dyspersji nanocząstek lipidowych, dodawanych do testowanych formułacji. Ponieważ tę samą sekwencję toku badań przeniesiono bezrefleksyjnie do rozdziału poświęconego prezentacji i dyskusji wyników, rodzi się pytanie: czy i w jakim stopniu, ustalona we wcześniejszych testach stabilność formułacji, była czynnikiem determinującym kierunek modyfikacji/optimalizacji tworzonych dyspersji nanocząstek lipidowych; zarówno „pustych”, jak i zawierających testowane irydoidy?

Odpowiedzi na to pytanie nie znalazłem w rozdziale poświęconym prezentacji i dyskusji wyników, chociaż znajduje się tam bardzo wiele wartościowych danych eksperymentalnych, analizowanych szczegółowo przez Doktorantkę. Niektóre dane liczbowe znajdujące się w tekście np. te opisujące spadek lepkości formułacji 2, podane w procentach z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku (str. 87) wskazują, że owa analiza była nad wyraz formalna pod względem matematycznym, natomiast ponad potrzebę precyzyjna pod względem znaczenia dla wartości wyników. Wskazuje na to analiza wykresów na Rys. 35, gdyż biorąc pod uwagę podane przez Autorkę wartości średnie pomiarów oraz błąd przekraczający 5%, podawanie wartości zmian w procentach, z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku jest po prostu nieuzasadnione. Na szczęście nie miało to wpływu na dobrze przeprowadzoną analizę zmian cech fizykochemicznych kosmetyków, w zależności od składu chemicznego i sposobu wytworzenia tych preparatów. W tym kontekście szczególnie interesujący naukowo jest wynik porównania krzywych rozkładu wielkości cząstek tworzących badane preparaty, gdyż tylko w przypadku formułacji 2, Doktorantka stwierdziła równoczesną obecność dwóch niemal równolicznych grup drobin różniących się wielkością o dwa rzędy. Czy istnieje wyjaśnienie tego zjawiska?

Wracając do analizy zmian, to wobec naprawdę imponującej liczby danych charakteryzujących wieloaspektowo formułacje testowane przez Panią mgr Martę Dąbrowską sądzę, że jeszcze bardziej interesujące wyniki może przynieść nieco bardziej zaawansowana analiza statystyczna tych informacji. Warto rozważyć taką ewentualność także w przypadku oznaczeń glikozydów irydoidowych w doświadczeniach poświęconych trwałości kompozycji zawierających te substancje, jak również w przypadku uwalniania tych związków jako substancji aktywnych testowanych preparatów. Oceniając trwałość kompozycji Doktorantka zetknęła się bowiem z problemem różnej czułości stosowanej metody oznaczeń wobec poszczególnych analitów. Dowodzi tego analiza danych zaprezentowanych na Rys. 54 (str. 106), gdyż dla nawet minimalnego oznaczalnego stężenia katalpolu, pole powierzchni pików przekracza wartość 10, podczas gdy dla aukubiny odpowiednia wartość jest bliska „0”. Zakładając, że dla stężenia katalpolu równego „0”, wartość pola powierzchni pików powinna także wynosić „0”, trudno mówić o liniowej zależności w zakresie niższych, spośród testowanych stężeń. Czy mógłbym prosić Autorkę o skomentowanie tego wyniku oznaczeń, szczególnie wobec tak niewielkiej, podanej różnicy wartości LOD obu substancji, przy około pięciokrotnej (na podstawie analizy wartości pomiarowych) różnicy czułości stosowanej metody? Tym bardziej, że relatywnie duże błędy pomiaru wykazane na krzywej kalibracyjnej aukubiny w zakresie stężeń poniżej 5-7  $\mu\text{g/ml}$ , moim zdaniem co najmniej utrudniają ocenę zmian ilościowych substancji w tym przedziale wartości. Podobny problem pojawia się w trakcie



analizy uwalniania pochodnych irydoidowych z wytworzonych formułacji kosmetycznych, gdyż w tym przypadku ocena dynamiki uwalniania aukubiny z preparatów zawierających mikrogramowe ilości tego związku, obciążona może być bardzo dużym błędem i prowadzić do nietrafnych wniosków.

Szczęśliwie jednak Pani mgr Marta Dąbrowska dowiodła w kolejnych doświadczeniach, że nanocząstki lipidowe dodawane do preparatów zawierały trwale inkorporowane irydoidy, a efektywność enkapsulacji tych substancji była bliska 90% w przypadku aukubiny oraz bliska 80% w przypadku katalpolu. Wykorzystując zaawansowane metody (TEM, XRD, DSC) do charakterystyki: morfologii, stopnia krystaliczności oraz odmiany polimorficznej wytworzonych nanocząstek lipidowych, ponad wszelką wątpliwość Autorka dowiodła zmian wywołanych obecnością irydoidów. Równocześnie potwierdziła sferyczny kształt, stabilność fizyczną i brak tendencji do aglomeracji tych drobin oraz efektywną enkapsulację obu testowanych związków, we wnętrzu nanocząstek. W ten sposób wykazała, że zastosowanie tak modyfikowanych nośników substancji aktywnych jest całkowicie realne. Chciałbym podkreślić, że Doktorantka wytworzyła preparaty kosmetyczne i przeprowadziła serię testów *in vivo*, finalnie dowodząc słuszności swojej tezy, w myśl której formułacje kosmetyczne zawierające nanocząstki lipidowe inkorporowane aukubiną lub katalpołem działają korzystnie zarówno na nawilżenie skóry, jak i redukcję zmarszczek.

W świetle przytoczonych wyników rodzi się pytanie czy Autorka rozważała łączne zastosowanie obu testowanych irydoidów w jednej formułacji? Z opisu właściwości tych substancji wynika, że mogłoby to być korzystne fizjologicznie, ze względu na komplementarny sposób działania; przeciwzapalnie aukubiny i regulujące transport membranowy - katalpolu.

Zapewne z powodu wielowątkowości ocenianej rozprawy, ekspresja niektórych kwestii budzi wątpliwości recenzenta. Mając świadomość, jak duży wpływ na sposób wyrażania myśli wywiera codzienna praktyka laboratoryjna i żargon, którym opisujemy naszą naukową aktywność, bardzo proszę o wyjaśnienie kilku wybranych sformułowań:

Str. 20 - Czy skóra jest naprawdę „narządem czucia”, czy raczej organem pełniącym wiele różnorodnych funkcji?

Str.45 - Czy informacja o rozpuszczalności irydoidów dotyczy substancji w wersji strukturalnej podanej na Rys. 11, czy raczej pochodnych glikozydowych?

Str. 71 – Czy rzeczywiście użycie detektora UV-Vis systemu HPLC umożliwia rozdział związków czynnych na kolumnie, jak sugeruje informacja podana obok Rys. 22 ?

Str. 99 – Co oznacza i jak interpretować opis osi odciętych brzmiący „Wysokość celi pomiarowej [mm]”?

Str. 109 - W jaki sposób Autorka definiuje "stopień uwalniania substancji aktywnych z formułacji kosmetycznych" ?

Chciałbym także nadmienić, że Pani mgr Marta Dąbrowska wydaje się być osobą bardzo „zdeteminowaną”, czemu daje wyraz w niezwyklej sposób. W tekście dysertacji termin „zdeteminowano” pojawia się w tej formie ponad pięćdziesiąt razy, a uwzględniając różne formy fleksyjne tego wyrażenia, liczba ta przekracza osiemdziesiąt.

Podsumowując ocenę niniejszego opracowania pragnę jednoznacznie stwierdzić, że wyrażone wątpliwości, komentarze i prośby o wyjaśnienie niektórych kwestii, nie rzutują na moją

bardzo pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Dąbrowskiej oraz jej dotychczasowego dorobku naukowego.

Dlatego też, doceniając walory złożonego toku i zakresu badań imponującego holistycznym podejściem do rozwiązania problemu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska Pani mgr Marty Dąbrowskiej dostarcza wielu oryginalnych, wartościowych naukowo informacji, a równocześnie posiada wyraźny wydźwięk aplikacyjny. W moim przekonaniu, niniejsza rozprawa z naddatkiem spełnia warunki ujęte w art. 13 pkt.1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789), jak również stosowne zapisy ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018r. poz. 1668).

Wnoszę zatem do Wysokiej Radę Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, o dopuszczenie Pani mgr Marty Dąbrowskiej, do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Ponadto, biorąc pod uwagę wartość naukową i aplikacyjną wyników badań ujętych w niniejszej dysertacji, proponuję Wysokiej Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, wyróżnienie tej rozprawy, w sposób przez Radę przyjęty.

