

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Intensywny rozwój rynku produktów kosmetycznych w Polsce oraz tendencja prognozowanych zmian rodzimej branży kosmetycznej wskazują na stale rosnący popyt w obszarze preparatów kosmetycznych z kategorii produktów *premium*, wynikający ze wzrostu zamożności społeczeństwa oraz świadomości w zakresie stosowanych produktów kosmetycznych. Wychodząc naprzeciw rosnącym jednocześnie oczekiwaniom konsumentów, wykorzystywanie innowacyjnych surowców oraz obiektywnie udowodniona skuteczność preparatów kosmetycznych staje się wymogiem obligatoryjnym. Dobór odpowiedniej substancji aktywnej stanowi kluczowy czynnik determinujący charakter oraz efektywność działania produktu kosmetycznego, warunkowaną również stopniem uwalniania związków czynnych z podłoża kosmetycznych oraz ich zdolnością do pokonywania bariery w postaci warstwy rogowej naskórka. Możliwość poprawy penetracji substancji aktywnych w głąb skóry, a tym samym zapewnienie założonego działania kosmetycznego upatruje się w zastosowaniu systemów nośnikowych o charakterze nanocząstek lipidowych.

Celem przedłożonej rozprawy doktorskiej była optymalizacja właściwości fizykochemicznych oraz aplikacyjnych formułacji kosmetycznych zawierających wybrane glikozydy irydoidowe: aukubinę oraz katalpol. Wybór związków czynnych powodowany był przypisywanym im właściwościom kosmetycznym, obejmującym wpływ na intensyfikację przebiegu procesów regeneracyjnych naskórka oraz regulację odpowiedniego poziomu nawodnienia poszczególnych struktur skórnych.

W części literaturowej niniejszej rozprawy doktorskiej omówiono budowę oraz podstawowe funkcje skóry, zwracając uwagę na elementy jej struktury odpowiadające za prawidłowy przebieg procesów regulujących transport wody oraz kosmetycznych składników aktywnych w obrębie kolejnych warstw skóry. Dokonano również syntetycznego opisu tematyki prawnych aspektów wprowadzenia produktu kosmetycznego na rynek, skupiając się także na preparatach kosmetycznych zawierających składniki z pogranicza nanotechnologii. Kluczowy aspekt odpowiedniego doboru substancji aktywnej omówiono na przykładzie wybranych glikozydów irydoidowych – aukubiny oraz katalpolu, podkreślając istotę umiejętności przewidywania charakteru transportu związków czynnych przez skórę, warunkującą potencjalny sukces oraz skuteczność działania projektowanej receptury kosmetycznej. Przedyskutowano także kwestię wykorzystania nanotechnologii w szeroko pojętej kosmetyce pielęgnacyjnej, zwracając uwagę zarówno na związane z nią możliwości, jak i potencjalne zagrożenia, ze szczególnym uwzględnieniem potencjału tkwiącego w inkorporacji związków aktywnych do nośników w postaci nanocząstek lipidowych. Zwieńczenie części literaturowej stanowił opis badań *in vivo*, stanowiących użyteczne narzędzie w zakresie obiektywnej weryfikacji efektywności działania projektowanych formułacji kosmetycznych, opartej na wymiernym określeniu wybranych parametrów skóry z wykorzystaniem nieinwazyjnych metod badawczych.

W ramach części doświadczalnej przedłożonej rozprawy doktorskiej zrealizowano założone zadania badawcze, pozwalające docelowo na osiągnięcie przyjętego celu głównego niniejszej rozprawy. Pierwszym etapem było przygotowanie trzech formułacji kosmetycznych (emulsji typu O/W otrzymanej metodą „na zimno”, emulsji typu O/W przygotowanej metodą „na gorąco” oraz hydrożelu na bazie hydroksyetylocelulozy) zawierających badane glikozydy irydoidowe (aukubina, katalpol) w ilości 0,5% wag. Przeprowadzone kolejno charakterystyka fizykochemiczna (pH, lepkość) oraz badania stabilności (technika dyfrakcji laserowej – LD, metoda wielokrotnego rozpraszania światła – MLS) potwierdziły prawidłowy zakres uzyskanych parametrów fizykochemicznych, stabilności oraz czystości mikrobiologicznej wszystkich badanych formułacji kosmetycznych z wyjątkiem emulsji O/W „na gorąco”, w przypadku której odnotowano obecność niestabilności o charakterze flokulacji oraz śmietanowania, nasilające się pod wpływem podwyższonej temperatury. Podłoże to określono jako niestabilne, nie kwalifikując go do dalszych badań.

Kolejnym etapem była optymalizacja dyspersji nanocząstek lipidowych przeznaczonych do inkorporacji aukubiny oraz katalpolu z wykorzystaniem metody emulgowania i sonikacji opartej na emulsji wielokrotnej (W/O/W), której dobór determinowany był charakterem hydrofilowym badanych związków czynnych. Zoptymalizowany skład ilościowo-jakościowy otrzymanych dyspersji pozwolił na próby inkorporacji aukubiny i katalpolu do wytworzonych nanocząstek lipidowych, uzyskując efektywność ich enkapsulacji na poziomie 89,52% (aukubina) oraz 77,02% (katalpol). Przeprowadzona następnie charakterystyka matrycy lipidowej: (i) analiza transmisyjnej mikroskopii elektronowej – TEM (potwierdzenie sferycznego kształtu struktur nośnikowych); (ii) analiza skaningowej kalorymetrii różnicowej – DSC i dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego – XRD (identyfikacja obecności lipidu w stabilnej formie β'); oraz (iii) ocena stabilności otrzymanych dyspersji (średnia wielkość cząstek – Z-Ave < 100 nm; wskaźnik polidispersyjności – PdI < 0,3; potencjał zeta – ZP > ± 30 mV) pozwoliły na określenie przygotowanych nanocząstek lipidowych jako wystarczająco stabilnych pod kątem wykorzystania ich jako składników formułacji kosmetycznych, potwierdzając jednocześnie optymalny dobór metody syntezy.

Kluczowym etapem było wprowadzenie otrzymanych dyspersji nanocząstek lipidowych do wybranych formułacji kosmetycznych (emulsji typu O/W „na zimno” oraz hydrożelu), dokonując następnie ich charakterystyki fizykochemicznej oraz oceny stabilności. Zdeterminowano wpływ dodatku nanocząstek lipidowych na obniżenie się pH podłoża kosmetycznego (w stopniu większym niż w przypadku formułacji kosmetycznych zawierających glikozydy irydoidowe w postaci stałej) oraz stabilizację konsystencji otrzymanych preparatów kosmetycznych, potwierdzoną wynikami badania lepkości. Inkorporacja nanocząstek lipidowych nie wpłynęła na stabilność formułacji kosmetycznych i określono ją jako niezależną od temperatury oraz czasu przechowywania próbek badanych formułacji kosmetycznych.

W toku badań przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej opracowano również metodykę oznaczania glikozydów irydoidowych w przygotowanych formułacjach kosmetycznych z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), w wyniku której potwierdzono stabilność chemiczną aukubiny oraz katalpolu, określając obniżoną temperaturę przechowywania oraz wprowadzenie substancji aktywnych do formułacji kosmetycznych w formie nanocząstek lipidowych jako czynniki determinujące maksymalne ograniczenie stopnia ubytku glikozydów irydoidowych z podłoża kosmetycznego.

Istotną część badań przedłożonej rozprawy doktorskiej stanowiło opracowanie metodyki oceny stopnia uwalniania aukubiny oraz katalpolu z otrzymanych formułacji kosmetycznych, w toku której zdeterminowano odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy lipofilowością podłoża kosmetycznego oraz stopniem uwalniania glikozydów irydoidowych z otrzymanych emulsji O/W. Dla formułacji o charakterze hydrożeli zawierających nanocząstki lipidowe inkorporowane aukubina i katalpolem odnotowano większy procent uwolnienia substancji aktywnej niż w przypadku standardowego podłoża (zawierającego glikozydy irydoidowe w formie składników fazy wodnej).

Ostatni etap przeprowadzonych badań stanowiły aplikacyjno-aparaturowe badania *in vivo* z udziałem ochotników. Zaobserwowano wpływ otrzymanych preparatów kosmetycznych zawierających aukubinę oraz katalpol na poprawę poziomu nawilżenia naskórka, przeczaskórkowej utraty wody, parametrów topografii oraz makrorzeźby skóry, odnotowując wzrost skuteczności działania w przypadku produktów kosmetycznych wzbogaconych nanocząstkami lipidowymi inkorporowanymi badanymi związkami aktywnymi. Dokonując porównania pomiędzy dwoma charakteryzowanymi glikozydami irydoidowymi, wskazano na przeciwzmarszczkowe właściwości aukubiny, potwierdzone w toku analizy parametrów topografii (↓ SEr, ↓ CONT) oraz makrorzeźby skóry (↓ całkowitej powierzchni zmarszczek, ↓ średniej długości oraz głębokości zmarszczek) oraz silne zdolność nawilżające katalpolu, poparte wynikami analizy parametrów związanych z regulacją gospodarki wodnej skóry (↑ poziomu nawodnienia naskórka, ↓ TEWL) i parametrów topografii skóry (↓ SEsm, ↓ SEsc). Odnotowano również korelację pomiędzy uzyskanymi wynikami badań aparaturowych a subiektywną oceną właściwości aplikacyjno-użytkowych testowanych preparatów kosmetycznych, w której ochotnicy podkreślili intensywniejszy efekt pielęgnacyjno-regenerujący w przypadku preparatów zawierających glikozydy irydoidowe inkorporowane do nanocząstek lipidowych.

Podsumowujący etap rozprawy doktorskiej stanowiło określenie wpływu sposobu wprowadzenia glikozydów irydoidowych do formułacji kosmetycznych na badane parametry fizykochemiczne, efektywność ich uwalniania z podłoża kosmetycznego oraz skuteczność działania otrzymanych preparatów kosmetycznych. Nie zaobserwowano znaczącego wpływu sposobu inkorporacji aukubiny i katalpolu na parametry charakterystyki fizykochemicznej oraz stabilność otrzymanych formułacji kosmetycznych. Określono natomiast poprawę stabilności chemicznej oraz efektywności uwalniania glikozydów irydoidowych enkapsulowanych w nanocząstki lipidowe z podłoża hydrożelowych. Zdeterminowano większą skuteczność działania kosmetycznego w przypadku preparatów kosmetycznych zawierających nanocząstki lipidowe, ze zwróceniem szczególnej uwagi na synergistyczny efekt inkorporowanych

związków aktywnych oraz nośników lipidowych na wzrost intensywności efektu przeciwzmarszczkowego, nawilżającego oraz regenerującego barierę naskórkową.

Badania przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej umożliwiły zaprojektowanie oraz otrzymanie zoptymalizowanej pod względem parametrów fizykochemicznych oraz aplikacyjnych formułacji kosmetycznej – hydrożelu na bazie hydroksyetylocelulozy zawierającego nanocząstki lipidowe inkorporowane aukubią lub katalpołem. Wybór determinowany był otrzymanymi wynikami analizy fizykochemicznej, stabilności długotrwałej otrzymanych formułacji kosmetycznych oraz stabilności chemicznej i efektywności uwalniania związków aktywnych z docelowego podłoża kosmetycznego. Biorąc pod uwagę zrealizowane badania *in vivo*, wskazano na wyższą skuteczność działania preparatów kosmetycznych zawierających badane glikozydy irydoidowe inkorporowane do nanocząstek lipidowych, potwierdzając przy tym potencjał aukubiny i katalpołu jako efektywnych surowców kosmetycznych.