



## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Alicji ŚLIWOWSKIEJ

pt.: *Badania właściwości fizykochemicznych i aplikacyjnych formułacji kosmetycznych zawierających jasmonidy wraz z oceną kinetyki ich przenikania przez bariery imitujące skórę*, wykonanej w Pracowni Chemii Stosowanej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

promotor: prof. dr hab. Izabela Nowak

i promotor pomocniczy: dr Anna Olejnik

Niestety, wraz z upływem lat, nie da się odwrócić procesów związanych ze starzeniem organizmów żywych i wynikającego z tego faktu zmian jakie towarzyszą tym procesom. Na szkodliwe działanie czynników zewnętrznych najbardziej narażona jest skóra, w której pojawiają się widoczne zmiany w formie zmarszczek, przebarwień czy spadku elastyczności i jej nawilżenia. Stąd jedną z ważnych jej form pielęgnacji jest stosowanie odpowiednich preparatów kosmetycznych i dermatologicznych.

W ostatnich czasach zaobserwować można rosnące zainteresowanie stosowaniem substancji pielęgnujących i leczniczych zawierających naturalne substancje biologicznie aktywne. Substancje te, jak słusznie zauważa Autorka ocenianej dysertacji, wywoływać mogą synergizm działania z określoną substancją chemiczną, poprzez wykorzystanie w celu intensyfikacji jej działania. Wśród takich substancji są fitohormony odpowiedzialne za wzrost i rozwój roślin. Niektóre z nich wykazują intensywną aktywność biologiczną. Przykładem może być kwas jasmonowy i jego pochodne, które wg danych literaturowych przyspieszają regenerację skóry, łagodzą jej podrażnienia (wywołane np. promieniowaniem UV) czy redukują przebarwienia. Słowem chodzi o nowej generacji preparaty kosmetyczne i farmaceutyczne, które w swojej kompozycji zawierają biologicznie aktywne substancje pochodzenia naturalnego w tym niskocząsteczkowe peptydy. Opracowanie i charakteryzacja nowo otrzymanych kompozytów z zastosowaniem nowoczesnych technik analitycznych daje gwarancję powtarzalnej formułacji tych preparatów. Ma to wpływ na ich skuteczność i jakość.

Taka koncepcja, analizując założenia ujęte w celu badań niniejszej rozprawy, przyświecała zarówno Autorce jak i Jej Promotorkom. Studia nad opracowaniem nowych kompozycji kosmetyków bazującego na specyficznych i selektywnych koniugatach stanowi tzw. „nowość naukową”. Realizacji tak



złożonej i wielowątkowej tematyki z sukcesami podejmują się tylko nieliczne laboratoria. Stąd należy pochwalić zarówno Doktorantkę jak i Panie Promotorki za wybór niełatwego tematu. Dzięki temu, wg mojej opinii, możliwe jest zrozumienie natury i właściwości, a w konsekwencji opis mechanizmów w rozpatrywanych układach. Uzupełnienie ich we właściwie dobrany aparat chemometryczny stanowi wzorcowe połączenie rozważań teoretycznych z praktyką. Zagadnieniom tym poświęcona jest oceniana dysertacja opracowana przez p. mgr Alicję Śliwowską. Dotyczy ona badania właściwości fizykochemicznych preparatów kosmetycznych zawierających kwas jasmonowy i jego pochodne w opracowanych formułacjach oraz studia nad przenikaniem i kinetyką tego procesu substancji biologicznie czynnych przez barierę naturalną jaką jest skóra.

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest typowym-klasycznym dla tego rodzaju opracowań dziełem. Czytelnik znajdzie tu rozdziały tj.: *Wstęp*, w którym zamieszczono *Część teoretyczną* i *doświadczalną*, *Cel pracy* i *Omówienie wyników badań*, *Podsumowanie* oraz *Streszczenie* w języku polskim i angielskim jak również *Spis osiągnięć naukowych* oraz *Spis załączników*. Tekst dysertacji kończy *Bibliografia*. Oceniane opracowanie liczy 182 stron maszynopisu, bogato dokumentowanego rysunkami i schematami (83) oraz wzorami analizowanych związków, tabelami (26) i aż 433 pozycjami przypisów literaturowych (?). Tak swoją drogą, kiedy Pani miała czas, i czy w ogóle, przeczytać te wszystkie pozycje? Należy podkreślić, że cytowane prace stanowią znakomite kompendium wiedzy i widać staranność ich doboru. W większości przypadków datowane są, na ostatnie dwudziestolecie !!! Całość jak klamrą spina niezwykle użyteczny wykazu skrótów i symboli oraz lista podziękowań. Zatem dokumentacja jest wystarczająco bogata i kompletna, by móc dokonać kompleksowej oceny osiągnięć Doktorantki. Ze względu na układ opracowanie podoba mi się. Wręcz, pod względem wizualizacyjnym, można je uznać za wzorcowe. Tekst napisany jest jasnym i w poprawnym językiem. Jak w każdej recenzowanej pracy doszukać się można różnych uchybień i niejasności. Zadaniem recenzenta jest wyłowić je, poddać krytycznej ocenie i dyskusji. Wywiązując się z tego obowiązku niestety zauważyłem brak konsekwencji w postępowaniu się prawidłową nomenklaturową. Chodzi głównie o nomenklaturę analityczną. „Lapsusy-perełki” językowe da się jednak wybaczyć, choć trzeba je wyartykułować by je wyeliminować. Dla przykładu: w analityce nie istnieje pojęcie *rozdział* (życia, książki) tylko *rozdzielanie* (jako proces) czy *piki* jako forma *sygnałów*, podobnie nie ma *kapilar* z *wąskim przekrojem* tylko o zdefiniowanej *średnicy* (kapilara z założenia ma małą średnicę), etc.

*Część teoretyczna*, to przede wszystkim zwięzły aczkolwiek niezwykle obrazowy i precyzyjny opis budowy i właściwości skóry. Autorka przybliżyła czytelnikowi podstawowe pojęcia i zwróciła uwagę na jej funkcje ochronne i życiowe. Dalej wykorzystując aparat fizykochemiczny opisała drogi i



mechanizm penetracji/transportu substancji biologicznie aktywnej przez skórę, zwracając uwagę na barierę biologiczną (współczynnik podziału  $\log P$  i współczynnik dyfuzji) i konsekwencje (prawa Ficka i wymiany mas). Kolejny rozdział to procesy starzenia skóry i wynikające z tego faktu konsekwencje jak również teorie opisujące ten proces. Dalej Doktorantka opisała preparaty kosmetyczne i farmaceutyczne, ich formy (roztwory, koloidy i emulsje) i właściwości fizykochemiczne. Zwróciła uwagę na stabilność i odporność tych preparatów oraz organoleptyczne i instrumentalne metody badania i kontroli właściwości utworzonych formuł (układy zmieszane-koniugaty). Integralną częścią tego opisu jest charakterystyka substancji biologicznie czynnych i badanie przenikania tych substancji w układach *in-vitro* i *in-vivo*. To ważny i ciekawy rozdział, biorąc pod uwagę różne modele i kwestie interpretacji uzyskanych wyników objętych harmonogramem badań. To również rozdział, który znakomicie łączy aspekt teoretyczny z praktycznym. Świetnie oddaje to treść Tabeli 6 i rozdział 11 wskazujący rolę i znaczenie fitohormonów a zwłaszcza jasmonidów jako substancji biologicznie aktywnych w formulacji preparatów kosmetycznych i farmaceutycznych. Ze zrozumiałych względów tą ostatnią grupę Autorka opisała krótko, aczkolwiek szczegółowo zwracając też uwagę na właściwości farmakologiczne tych związków i oddziaływania z np. peptydami i tworzenia z tymi ostatnimi trwałych i stabilnych koniugatów, jako form preparatów kosmetycznych i farmaceutycznych. W tym miejscu należy przyznać, że recenzent znacząco pogłębił swoją wiedzę w tym zakresie. Uważam, że jest to świetny materiał, który po odpowiednim przereklamowaniu, z powodzeniem powinien być wykorzystany dla celów dydaktycznych.

Generalnie nie mam zastrzeżeń merytorycznych do przedstawionych tu kwestii. Jak bumerang wracają sprawy nomenklatury i posługiwanie się tzw. „slangiem laboratoryjnym” a nie zaleceniami opisanymi w ostatnim opracowaniu mentora i promotora (*Chromatografia i techniki elektromigracyjne. Słownik pięcioletni*, Wyd. WNT, Warszawa 2016). Zapewne te nieprecyzyjności w sformułowaniach należy traktować jako wynik młodego temperamentu i młodego pośpiechu w osiągnięciu końcowego sukcesu.

W części *doświadczalnej* Doktorantka szczegółowo opisała metodyki, procedury i warunki przeprowadzonych operacji jednostkowych, zastosowane techniki pomiarowe oraz wykaz materiałów i odczynników zastosowanych w badaniach. W tym miejscu należy podkreślić w zasadzie trafność zarówno wyboru użytych technik jak i instrumentów pomiarowych.

Za najważniejsze dokonania Doktorantki należy uznać:

1. Opracowanie serii nowych preparatów kosmetycznych i farmaceutycznych zawierających jasmonidy jako główne substancje biologicznie aktywne i wykazanie, że kompozycja i lepkość opracowanych preparatów mają znaczący wpływ na ich stabilność;



2. Wykazanie, że rozpuszczalność substancji aktywnej w podłożu kosmetycznym ma wpływ na stabilność preparatu. Obecność substancji z grupy alkoholi (izopropanol, gliceryna) w kompozycji preparatu ułatwia rozpuszczanie lipofilowych substancji aktywnych;
3. Modyfikacja kwasu jasmonowego za pomocą wybranych tetrapeptydów powoduje uwolnienie większej ilości substancji aktywnej z przygotowanych hydrożeli w porównaniu z kwasem jasmonowym. Podłoża o niskiej lepkości warunkują szybsze uwalnianie kwasu jasmonowego i jego pochodnych do medium w porównaniu z preparatami o wyższej lepkości;
4. Systematyczne badania wykazały, że aplikacja preparatu zawierającego koniugat o symbolu JA-YYKS-NH<sub>2</sub> w stosunku do testowanej skóry powoduje większy wzrost jej nawilżenia;
5. Ocena kinetyki uwalniania, a w zasadzie opisu profili uwalniania, kwasu jasmonowego i jego pochodnych oraz dopasowanie i weryfikacja ich przebiegu zgodnie z modelem kinetycznym Higuchiego.
6. Zastosowanie szerokiej gamy nowoczesnych technik analitycznych i instrumentalnych w kontrolowaniu procesu preparatyki i formulacji koniugatów. Dzięki temu możliwe było precyzyjne określenie ich składu, masy, czystości chemicznej i kompatybilności (np. badania DSC, HPLC, MS, i inne).
7. Podjęcie próby walidacji opracowanych metodyk i procedur analitycznych tak by możliwy był łatwy transfer z laboratorium do przemysłu.

Jak w każdej recenzowanej pracy doszukać się można różnych uchybień i niejasności, które należy poddać dyskusji i krytyce. Z satysfakcją stwierdzam, że takich uchybień trudno „na siłę” znaleźć w ocenianym opracowaniu. Niewątpliwie jest to efekt starannej korekty Autorki, ale też i rygorystycznej oceny wyników badań przed ich opublikowaniem przez obie Panie Promotor. Wywiązując się z powierzonego obowiązku mam jednak kilka uwag i pytań:

- Dlaczego przy wyznaczaniu mas cząsteczkowych spreparowanych koniugatów nie posłużyła się Pani rekomendowaną do tego celu chromatografią żelową (SEC) a jedynie HPLC sprzężoną ze spektrometrią mas ? Tym bardziej, że ani słowa nie wspomina Pani o czystości sygnałów.
- Wg mnie nie jasne jest wyjaśnienie przebiegu korelacji profilu zmian absorbancji oraz procent wygaszania oddziaływania rodnika DPPH z kwasem jasmonowym i jego pochodnymi (Rys. 44 i 45, str. 91 i 92). Czy lokalizację krzywych tłumaczyć można obecnością różnocennych grup funkcyjnych? Co z resztkowymi grupami -NH<sub>2</sub> ? Proszę o ustosunkowanie się do tej kwestii.
- Mam wątpliwości co do dopasowania profilu IV z Rys. 75 (model Korsmeyera-Peppasa). Z przebiegu tej zależności wynika, iż jakby „na siłę”



szukano odmiennej od prostoliniowego przebiegu korelacji, tłumaczeni na str. 131 jest mało przekonujące. Proszę o komentarz.

- Szkoda, że w swoich rozważaniach nt transportu substancji biologicznie czynnej przez barierę biologiczną jaką jest skóra nie uwzględniła Pani modelu QSRR (ilościowa zależność retencja-struktura), która najlepiej opisuje te procesy w układach biologicznych z wykorzystaniem układów chromatograficznych.

Przytoczone uwagi i wątpliwości nie podważają w żadnej mierze wartości rozprawy i mojej pozytywnej jej oceny. Reasumując, uważam, że cel pracy został zrealizowany, a postawione przez Autorkę tezy znalazły potwierdzenie. Rozprawa mgr Alicji Śliwowskiej zawiera bogaty, solidny i wartościowy materiał badawczy. Jednocześnie uważam, że Kandydatka wykazała się dobrą znajomością różnych technik analitycznych oraz metodologii badań dla potrzeb przemysłu kosmetycznego.

Reasumując stwierdzam, że powyższe uwagi nie obniżają wartości merytorycznej ocenianej dysertacji, a większość z nich ma charakter dyskusyjny. Spodziewam się, że uzyskam na nie odpowiedź podczas publicznej obrony. Jednocześnie uważam, że w świetle obowiązujących przepisów (Ustawa z dnia 14 marca 2003 roku *O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z uzupełnieniami i nowelizacją*) przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim i **wnoszę** do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Alicji ŚLIWOWSKIEJ do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk chemicznych**.

Jednocześnie, ze względu na to iż oceniana dysertacja ma charakter innowacyjny a swoją tematyką, zakresem (interdyscyplinarny charakter), nowatorstwem i jakością zdecydowanie wykracza poza ogólnie przyjęte standardy z pełnym przekonaniem **wnoszę** do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu *o jej wyróżnienie*.

Stary Toruń 12 listopada 2017 r.

PROFESOR  
Katedry Chemii Środowiska i Bioanalizy  
  
prof. dr hab. Bogusław Buszewski

