



Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Prof. dr hab. inż. Barbara Gawdzik
Instytut Chemii
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
ul. Uniwersytecka 7
25-406 Kielce
b.gawdzik@ujk.edu.pl

Kielce 29.01.2026

Ocena Pracy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Skoczeń

pt. „Otrzymywanie i charakterystyka formułacji kosmetycznych zawierających inkorporowane substancje z grupy laktonów seskwiterpenowych do nanaocząstek lipidowych”

Podstawę opracowania stanowi uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, odnośnie powierzenia mi funkcji recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Skoczeń pt. „Otrzymywanie i charakterystyka formułacji kosmetycznych zawierających inkorporowane substancje z grupy laktonów seskwiterpenowych do nanocząstek lipidowych” z dnia 24 października 2025 roku.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Aleksandry Skoczeń, wykonana pod kierunkiem Profesor Izabeli Nowak dotyczy opracowania strategii otrzymywania formułacji kosmetycznych na bazie nanocząstek lipidowych z inkorporowanymi laktonami seskwiterpenowymi: kostunolidem i laktonem dehydrokostusowym oraz kompleksowej analizy właściwości fizykochemicznych i biologicznych opracowanych formułacji, w tym ich stabilności, zdolności enkapsulacji, przenikania przez skórę oraz aktywności biologicznej, w celu oceny możliwości ich zastosowania w preparatach kosmetycznych i farmaceutycznych.

Podjęcie tego typu badań jest uzasadnione szczególnie wobec rosnących potrzeb opracowania nowych, efektywnych metod otrzymywania i modyfikacji

strukturalnych nośników, pełniących rolę systemów transportowych dla związków biologicznie aktywnych. Zwłaszcza pochodnych o określonych właściwościach fizykochemicznych wykazujących wyższą stabilność i lepsze właściwości farmakokinetyczne w stosunku do standardowo stosowanych farmaceutyków.

Ponadto pragnę podkreślić, że podjęcie tematyki rozprawy jest godne pochwały, tak ze względu na obszar badań w dziedzinie chemii kosmetycznej i farmaceutycznej, jak i z uwagi na tradycje badawcze zespołu kierowanego przez Profesor Izabelę Nowak w zakresie innowacyjnych strategii otrzymywania i badania właściwości kosmetyków oraz kosmeceutyków.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska o charakterze monograficznym liczy 179 stron i zgodnie z przyjętymi standardami została podzielona na dwie części: literaturową i doświadczalną. Dysertacja jest bogato zilustrowana rysunkami (64) oraz tabelami (26), zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, podsumowanie i wnioski, wykazy stosowanych skrótów i cytowanej literatury, a także materiały uzupełniające, na które składa się sześć załączników stanowiących formularze zgody na udział w badaniu aplikacyjnym, a także ankieta wraz z kwestionariuszem, oświadczeniami oraz informacjami dla osób uczestniczących w badaniach. Ponadto Autorka zamieściła również wykaz dorobku naukowego, co dla mnie jako recenzenta jest istotnym uzupełnieniem tematyki badawczej.

Część literaturową, poprzedza wstęp ze sprecyzowanym zadaniowo celem badań wpisanych w realizację pracy doktorskiej.

W pierwszym rozdziale zostały przedstawione zagadnienia związane z transportem substancji aktywnych przez skórę, ze szczególnym uwzględnieniem roli warstwy rogowej naskórka jako głównej bariery ograniczającej przenikanie związków biologicznie czynnych. Omówiono budowę i właściwości *stratum corneum*, modele strukturalne warstwy rogowej oraz wpływ wody i lipidów na dyfuzję substancji aktywnych. Na kolejnych stronach scharakteryzowano trzy generacje nanocząstek lipidowych (SLN, NLC oraz SmartLipids®) pod kątem właściwości strukturalnych, fizykochemicznych oraz mechanizmów kontrolowanego uwalniania substancji aktywnych. Ponadto wymienione zostały metody wykorzystywane do pomiaru wielkości cząstek, potencjału zeta, analizy morfologii (TEM), właściwości termicznych (DSC) oraz strukturalnych (XRD), które odgrywają kluczową rolę

w ocenie stabilności, jednorodności i funkcjonalności układów nośnikowych nanocząstek lipidowych. Autorka pracy zwróciła uwagę czytelnika na aspekt aplikacyjny nanocząstek lipidowych w produktach kosmetycznych i dermokosmetycznych, podkreślając ich wpływ na zwiększenie biodostępności substancji aktywnych, poprawę stabilności formułacji, redukcję potencjału drażniącego oraz poprawę właściwości sensorycznych preparatów. Rozdział 4.1.3 kończy tabelaryczne porównanie nanocząstek lipidowych (SLN/NLC) z innymi systemami nośnikowymi: liposomami i nanoemulsjami, które jednoznacznie wskazują na ich aplikacyjne zalety w formułacjach dermalnych. Omawiając właściwości fizyczne, występowanie w świecie roślin oraz szerokie spektrum aktywności biologicznej tytułowych laktonów seskwiterpenowych Doktorantka wskazała na potrzebę badań, wynikającą z ograniczeń zastosowania kostunolidu oraz laktonu dehydrokostusowego w dermatologii i kosmetologii, związanych z ich wysoką liofilowością i niską rozpuszczalnością w wodzie. Kolejne rozdziały części literaturowej dotyczą układów formułacyjnych w szczególności emulsji, hydrożeli i oleożeli. Autorka przedstawiła kryteria klasyfikacji, mechanizmy stabilizacji i destabilizacji oraz zastosowanie emulsji w preparatach kosmetycznych i farmaceutycznych, a w przypadku hydrożeli i oleożeli, mechanizmy tworzenia struktury przestrzennej oraz potencjał w zwiększaniu stabilności i biodostępności substancji aktywnych. Z dużym zainteresowaniem przeczytałam rozdział 4.6, w którym zdefiniowane zostały czynniki determinujące kinetykę uwalniania składników aktywnych z emulsji i żeli oraz metody badań *in vitro* i *ex vivo* z uwzględnieniem technik dyfuzji przez membrany, metod spektrofotometrycznych i chromatograficznych. Dobrze wprowadzenie do zagadnień związanych z projektowaniem preparatów dermokosmetycznych o działaniu ochronnym i przeciwstarzeniowym stanowi kolejny rozdział, w którym opisana została rola antyoksydantów w ochronie skóry przed stresem oksydacyjnym, mechanizmy działania przeciwutleniaczy oraz testy chemiczne *in vitro* (DPPH, ABTS, FRAP, Folina-Ciocalteu). Część literaturową zamyka rozdział poświęcony nieinwazyjnym technikom instrumentalnym, które są standardowo wykorzystywane do oceny biofizycznych parametrów skóry: nawilżania, funkcji bariery skórnej, kolorytu, topografii oraz makrorzeźby.

Pragnę podkreślić, że w oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo naukowe Pani mgr Aleksandra Skoczeń przedstawiła istotne zagadnienia, stanowiące tło problemów bezpośrednio związanych z badaniami wpisanymi w realizację pracy doktorskiej. To bardzo staranne przygotowanie teoretyczne, pozwoliło na sprecyzowanie celów dysertacji doktorskiej, którymi były:

- opracowanie i charakterystyka nanocząstek lipidowych jako nośników aktywnych biologicznie seskwiterpenowych laktonów: kostunolidu i laktonu dehydrokostusowego,
- ocena i optymalizacja właściwości fizykochemicznych, stabilności oraz efektywności otrzymanych formułacji, zawierających nanocząstki lipidowe inkorporowane laktonami seskwiterpenowymi,
- analiza uwalniania i przenikania przezskórnego laktonów seskwiterpenowych zarówno w formie enkapsulowanej jak i nieenkapsulowanej,
- określenie potencjału aplikacyjnego otrzymanych układów w kontekście zastosowań kosmetycznych, dermokosmetycznych oraz farmaceutycznych.

Przed prezentacją wyników badań Autorka pracy doktorskiej opisała procedurę otrzymywania sześciu typów dyspersji lipidowych różniących się obecnością substancji aktywnej oraz preparatykę czterech formułacji kosmetycznych. Przedstawiła komplementarne metody analityczne: wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC), dynamiczne i elektroforetyczne rozpraszanie światła (DLS i ELS), transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM), skaningową kalorymetrię różnicową (DSC) oraz dyfrakcję promieniowania rentgenowskiego (XRD), które zastosowała w badaniach nad otrzymanymi nanocząsteczkami lipidowymi oraz formułacjami kosmetycznymi zawierającymi laktony seskwiterpenowe. Ponadto w tym rozdziale wymieniła metody (DPPH, ABTS, Folina-Ciocalteu, FRAP) wykorzystane w badaniach aktywności antyoksydacyjnej laktonów seskwiterpenowych, a także badania aplikacyjne *in-vivo*. W tym miejscu pragnę podkreślić, że zaprojektowana metodologia i kolejność badań, a zwłaszcza powiązanie etapu projektowania nośników z wielowymiarową oceną ich potencjału aplikacyjnego w formułacjach

kosmetycznych, świadczą o dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Części pracy doktorskiej zatytułowaną „Wyniki badań i dyskusja” Doktorantka rozpoczyna od uzasadnienia wyboru stałego lipidu Softisanu® 601, jako najbardziej odpowiedniego nośnika do syntezy nanocząstek lipidowych zawierających kostunolid lub lakton dehydrokostusowy. Następnie aby zastosować otrzymane stałe nanocząstki lipidowe w roli składnika formułacji kosmetycznej przeprowadziła kompleksową analizę ich struktury, stabilności oraz stopnia inkorporacji laktonów seskwiterpenowych. Wykorzystując dynamiczne i elektroforetyczne rozpraszanie światła (DLS i ELS) przeanalizowała zmiany w czasie stabilności otrzymanych dyspersji nanocząstek lipidowych. Uzyskane zmienne wartości: średnicy cząstek, wskaźnika polidispersyjności, potencjału zeta oraz transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM), jednoznacznie wykazały przewagę otrzymywania nanocząstek lipidowych metodą wysokociśnieniowej homogenizacji (HPH) nad metodą emulsji wielokrotnej (W/O/W). Dzięki korelacji wyników skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) oraz dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD) Doktorantka wykazała, że proces formułacji oraz inkorporacja laktonów seskwiterpenowych prowadzą do częściowej amorfizacji i zaburzenia uporządkowania krystalicznego matrycy lipidowej. Wyniki analizy XRD, a zwłaszcza brak sygnałów charakterystycznych dla krystalicznych form laktonów potwierdza ich skuteczne rozproszenie w rdzeniu lipidowym, a tym samym skuteczną enkapsulację. Ocena efektywności enkapsulacji obu laktonów seskwiterpenowych w otrzymanych nanocząstkach lipidowych została przeprowadziła na podstawie opracowanej i zwalidowanej nowej metody z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Kolejny rozdział tej części pracy Pani mgr Aleksandra Skoczeń poświęciła analizie parametrów jakościowych takich jak pH, lepkość, rozkład wielkości cząstek oraz stabilność fizyczna i chemiczna, zarówno formułacji kosmetycznych zawierających laktony seskwiterpenowe (kostunolid i lakton dehydrokostusowy) w postaci wolnej jak i w formie enkapsulowanej w stałych nanocząstkach lipidowych. Analogicznej analizie poddała także bazowe emulsje typu O/W otrzymywane metodą „na zimno” i „na ciepło”, oleożele oraz hydrożele. Na podstawie uzyskanych wyników, potwierdziła kluczową rolę rodzaju matrycy

nośnikowej w kształtowaniu stabilności i funkcjonalności formulacji. Decyzja o wykluczeniu hydrożeli z udziału w dalszych badaniach, z uwagi na ich ograniczoną kompatybilność z laktonami seskwiterpenowymi, potwierdzoną zarówno wynikami badań stabilności fizycznej jak i obserwacjami reologicznymi, świadczy o krytycznym podejściu Doktorantki do otrzymanych rezultatów badań. Na uwagę zasługuje również porównawcza analiza obu laktonów, która wraz z analizą możliwości modulowania kinetyki uwalniania substancji aktywnych oraz poprawą ich trwałości w warunkach podwyższonej temperatury stanowi wymierną wartość poznawczą dysertacji. W oparciu o metody spektrofotometryczne Doktorantka określiła aktywność antyoksydacyjną kostunolidu i laktonu dehydrokostusowego. Wysoka liniowość kalibracji dla testów DPPH, ABTS, FRAP i Folina-Ciocalteu potwierdziła poprawność metodyczną wykonanych oznaczeń. W dyskusji otrzymanych wyników Autorka podkreśliła, że test ABTS, umożliwiający zarówno transfer elektronu jak i atomu wodoru, jest bardziej odpowiedni do oceny aktywności laktonów seskwiterpenowych niż test DPPH. Jednocześnie zwróciła uwagę na ograniczoną przydatność metod FRAP i Folina-Ciocalteu w odniesieniu do pochodnych laktonowych niezawierających w swej strukturze podstawników fenolowych, a także ograniczoną zdolność testowanych laktonów do bezpośredniego zmiatania wolnych rodników.

Ostatnim etapem prac eksperymentalnych przedstawionych w ramach rozdziału „Wyniki badań i dyskusja” były badania o charakterze aplikacyjno-użytkowym prowadzone z zastosowaniem standardowych technik pomiarowych w połączeniu z subiektywną oceną użytkową. Otrzymane oleożele i emulsje typu O/W zawierające laktony seskwiterpenowe, zarówno w postaci wolnej jak i enkapsulowanej w stałych nanocząstkach lipidowych zostały poddane kompleksowej ocenie skuteczności. Badania ukierunkowano na analizę zmian parametrów biometrycznych skóry dłoni, ze szczególnym uwzględnieniem poziomu nawilżenia, funkcji bariery naskórkowej (TEWL), kolorytu pod kątem zawartości melaniny i stopnia zaczerwienienia oraz właściwości powierzchniowych skóry. Uzyskane rezultaty jednoznacznie dowodzą, że zastosowanie nanocząstek lipidowych w formulacjach kosmetycznych istotnie wzmacnia ich działanie nawilżające, ochronne i korygujące koloryt skóry. Natomiast enkapsulacja laktonów

seskwiterpenowych zwiększa ich biodostępność, stabilność oraz czas kontaktu ze skórą, prowadząc do skuteczniejszej modulacji procesów zapalnych i melanogenezy. Ponadto przedstawione wyniki potwierdzają synergistyczne działanie nanocząstek lipidowych i laktonów seskwiterpenowych, a tym samym zasadność ich zastosowania w nowoczesnych formułacjach kosmetycznych o działaniu nawilżającym, regenerującym, ochronnym i przeciwstarzeniowym.

Podsumowując tę zasadniczą część pracy doktorskiej pragnę podkreślić, że bardzo podoba mi się zaplanowana strategia projektowania układów nośnikowych: od syntezy i optymalizacji składu, przez charakterystykę fizykochemiczną, ocenę stabilności, enkapsulacji i uwalniania substancji aktywnych, aż po badania biologiczne i aplikacyjne *in vivo*. Natomiast połączenie metod instrumentalnych z subiektywną oceną użytkową umożliwiło nie tylko ilościową ocenę efektów oddziaływania preparatów na skórę, lecz także ich interpretację w kontekście percepcji konsumenckiej, co ma istotne znaczenie aplikacyjne i wdrożeniowe.

Rozprawę doktorską zamyka rozdział „Podsumowanie i wnioski”, który w pełni koresponduje z zakresem i jakością prowadzonych badań i wraz z obszernym materiałem eksperymentalnym świadczy o dużym nakładzie pracy Doktorantki i Jej naukowej dojrzałości.

Przechodząc do uwag, które wynikają z powierzonej mi roli recenzenta, pragnę zauważyć, że trudno jednoznacznie stwierdzić na podstawie ilu publikacji została zredagowana praca doktorska, zwłaszcza że publikację autorstwa F. Olechowskiego, R.H. Müllera i S.M. Pyo wymieniono w wykazie literatury dwukrotnie z dwoma różnymi numerami [28] i [32]. Analogiczna sytuacja ma miejsce w przypadku publikacji z numerami [40] i [42] oraz publikacji, której przypisano numery [41] i [44]. Odnotowałam niekonsekwencję w stosowaniu przedrostków liczebnikowych: „trój-” (np. trójglicerydy) oraz „tri-” (np. tristearyny) jak również rozbieżności w zapisie wskaźnika polidispersyjności, oznaczanego w spisie symboli jako „PDI”, a w tekście pracy jako „Pdl”. Ujednolicenia wymagają również skróty nanocząstek lipidowych inkorporowanych kostunolidem i nanocząstek lipidowych inkorporowanych laktonem kostusowym: na Rysunku 7.4 (str. 88) mają symbole odpowiednio N-K i N-L, natomiast w tekście pracy K-SLN i L-SLN.

Wykaz stosowanych skrótów i akronimów ułatwia lekturę pracy, pod warunkiem że jest kompletny. W przedmiotowym wykazie nie zostały wymienione następujące skróty: SPL i LPL (str. 17), PCA (str. 18), K, L i DHE (str. 29) oraz EE (str. 92). Nie wiadomo czy „L” i „DHE” to skróty, pod którymi kryje się lakton dehydrokustusowy. Ponadto skrót „DHE” nie został zdefiniowany ani w „Spisie symboli, oznaczeń i skrótów stosowanych w pracy” ani w tekście rozprawy. Stosowanie kolokwializmów i skrótów myślowych jak np. „Kostunolid (sam)” i „Lakton (sam)” (Tabela 7.4, str. 90), „puste SLN” (str. 98) czy „załadunek substancji” (str. 91) nie wpisuje się w profesjonalny styl dysertacji.

Nie zgadzam się ze stwierdzeniem, że zmiany wartości pH formulacji kosmetycznych zawierających kostunolid i lakton dehydrokustusowy wynikają z różnej reaktywności pierścienia laktonowego, ponieważ są konsekwencją różnic w podstawieniu pierścienia laktonowego, który w obu laktonach seskwierpenowych jest pierścieniem γ -laktonowym.

W rozdziale 11 „Spis rysunków i tabel” (str. 163) zabrakło rysunku 4.11 (str. 50), na którym przedstawione są obrazy skóry ochotników należących do różnych grup wiekowych.

W mojej opinii zbyt narracyjny charakter rozdziału 7.5 zatytułowanego „Badanie efektywności działania otrzymanych preparatów kosmetycznych” można było zredukować na rzecz bardziej syntetycznego ujęcia kluczowych obserwacji, bez uszczerbku dla wartości merytorycznej wyników. Pozostając przy wartości merytorycznej rozprawy pragnę zaznaczyć, że także uchybienia stylistyczne, gramatyczne, interpunkcyjne i edytorskie nie wpływają na jej wartość merytoryczną.

Podczas publicznej obrony proszę o przedstawienie wykresu ilustrującego procentowy ubytek kostunolidu po 90 dniach przechowywania w temperaturze 4°C, 25°C i 40°C, którego Doktorantka nie zamieściła w rozprawie. Proszę także o odniesienie uzyskanych wyników badań nad otrzymanymi nanostrukturalnymi nośnikami lipidowymi do innych, znanych systemów nośników lipidowych stosowanych w formulacjach kosmetycznych. Ponadto proszę o odpowiedź na następujące pytania: 1) Czy poza jakościową analizą zmian krystaliczności matrycy lipidowej podjęto próbę ilościowego określenia stopnia krystaliczności, np. poprzez wyznaczenie odpowiedniego wskaźnika lub parametru szerokości połówkowej

refleksów (FWHM)? oraz 2) Czy istniał rozdział 4.5? Jeśli tak, to z jakich powodów został usunięty z tekstu i z treści pracy?

Oceniając wartość merytoryczną recenzowanej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że w mojej opinii, do najważniejszych osiągnięć wśród bogatego materiału doświadczalnego należy zaliczyć:

- zaprojektowanie i zoptymalizowanie metody otrzymywania nanocząstek lipidowych o jednorodnym rozkładzie wielkości cząstek, korzystnych właściwościach fizykochemicznych oraz wysokiej powtarzalności procesu, co ma kluczowe znaczenie z punktu widzenia dalszego rozwoju technologicznego i możliwości skalowania,
- zainkorporowanie z wysoką efektywnością, przekraczającą 90%, kostunolidu oraz laktonu dehydrokustusowego do matrycy lipidowej nanocząstek, które znacząco wpłynęło na poprawę ich fizykochemicznej stabilności, a także ochronę przed czynnikami degradującymi,
- wykazanie, że zastosowanie nanocząstek lipidowych, jako systemów nośnikowych znacząco modyfikuje profil uwalniania enkapsulowanych laktonów seskwiterpenowych, zapewniając ich kontrolowane i przedłużone uwalnianie, co przekłada się bezpośrednio na zwiększenie aktywności biologicznej i ograniczenie strat substancji aktywnej w formulacjach kosmetycznych,
- potwierdzenie aplikacyjnej skuteczności oraz bezpieczeństwa opracowanych formułacji kosmetycznych w badaniach *in vivo*, które wykazały ich korzystny wpływ na kluczowe parametry funkcjonalne skóry, takie jak nawilżenie, elastyczność, koloryt oraz transepidermalna utrata wody, przy jednoczesnym bezpieczeństwie dermatologicznym i wysokiej akceptowalności sensorycznej, co wskazuje na realny potencjał wdrożeniowy zaprojektowanych rozwiązań.

Analizując w pełni zrealizowane przez Doktorantkę cele, które wpisują się w aktualne trendy rozwoju zrównoważonych technologii oraz potrzeby dermatologii, farmacji i kosmetologii, związane z poszukiwaniem skutecznych i bezpiecznych systemów przezskórnego dostarczania substancji aktywnych, nie mam żadnych wątpliwości, że tematyka prowadzonych w ramach dysertacji doktorskiej badań jest

ważna i ciekawa. Jestem również przekonana, że uzyskane wyniki, mają wartość poznawczą i aplikacyjną, a w niedalekiej (mam nadzieję) perspektywie także wdrożeniową.

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji dysertacja autorstwa Pani mgr Aleksandry Skoczeń zatytułowana: „Otrzymywanie i charakterystyka formułacji kosmetycznych zawierających inkorporowane substancje z grupy laktonów seskwiterpenowych do nanocząstek lipidowych” spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. W związku z powyższym z całym przekonaniem przedstawiam Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu wniosek o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Skoczeń do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej.

Phabane Grawski