



Dr hab. Bogusława Łęska, prof. UAM
Wydział Chemii UAM Poznań

Poznań, 27.07.2012 r.

RECENZJA
pracy doktorskiej Pani mgr Anny Olejnik
pt.: „Oznaczanie niskocząsteczkowych peptydów w formulacjach kosmetycznych
oraz badanie ich przenikania przez błony syntetyczne”

Praca doktorska Pani mgr Anny Olejnik została wykonana pod kierunkiem naukowym prof. UAM, dr hab. Izabeli Nowak w Pracowni Chemii Stosowanej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Recenzowana rozprawa dotyczy opracowania metody bezpośredniego oznaczania niskocząsteczkowych peptydów w formulacjach kosmetycznych oraz określeniach ich przenikalności przez różnorodne błony syntetyczne. Tytuł przedstawionej rozprawy doktorskiej został poprawnie zdefiniowany i odpowiada przedstawionym wynikom badań.

Przedstawiona do oceny dysertacja umiejscowiona jest w tematyce realizowanej w Pracowni Chemii Stosowanej UAM, obejmującej szeroko rozumianą chemię kosmetyczną, czyli wiedzę o kosmetykach, ich właściwościach i substancjach czynnych, a w szczególności metodach oceny ich działania. Przedmiot pracy doktorskiej jest bardzo interesujący, bowiem związany jest z najszybciej rozwijającą się gałęzią przemysłu – kosmetycznym. Tym samym poszukiwanie coraz to nowszych technik badawczych umożliwiających analizę i poznanie wpływu biologicznie czynnych składników ma ogromne znaczenie aplikacyjne.

Autorka, mgr Anna Olejnik, wyznaczyła sobie za cel opracowanie skutecznej metody bezpośredniej identyfikacji niskocząsteczkowych peptydów obecnych w formulacjach kosmetycznych, bez wstępnych procesów rozdzielania. Następnie wykorzystanie spektrometrii mas techniką MALDI, z użyciem różnych materiałów mezoporowatych jako matryc, w celu oznaczenia składników aktywnych w formulacjach kosmetycznych. Celem dysertacji było także



znalezienie odpowiedniego nośnika, który pozwoliłby na kontrolowane uwalnianie niskocząsteczkowych peptydów. Następnie, w dalszych etapach pracy, opracowanie metodyki badań uwalniania peptydów przez błony syntetyczne oraz wpływu rodzaju formułacji kosmetycznej oraz stosowanej błony na ten proces.

W ocenianej dysertacji, liczącej 174 strony Doktorantka w systematyczny i logiczny sposób przedstawiła tok działania oraz wyniki prowadzonych przez siebie badań. Rozprawa doktorska jest podzielona na klasyczne rozdziały:

- wstęp, część literaturowa i cel pracy (rozdziały 1-3, 45 stron);
- część doświadczalna (określona jako metodyka pracy, rozdział 4, zawiera 26 stron);
- omówienie wyników i dyskusja (rozdział 5, 84 strony);
- podsumowanie i wnioski (rozdział 6, 4 strony)

Całość pracy zakończona jest spisem literatury (rozdział 9). Obejmuje on 210 prac naukowych z ostatnich dwudziestu lat. Ponadto opracowanie zawiera streszczenie w języku angielskim (rozdział 7, Sumary) oraz dodatkowo, wykaz dorobku naukowego Doktorantki (rozdział 8). Do całości Autorka dołączyła płytę CD, na której znajdują się 4 załączniki, wizualizujące oddziaływania badanych tetrapeptydów AcPPYL, AcYPPF oraz AcQDVH w pudle oraz podczas przenikania przez modelowa błonę lipidową DPPC w fazie wodnej.

W części literaturowej Autorka zawarła aktualny przegląd piśmiennictwa światowego dotyczącego realizowanego przez siebie tematu. Część literaturowa stanowi dobre wprowadzenie do całej pracy i pokazuje, że Autorka dokładnie poznała zagadnienia obejmujące najważniejszych aspekty pracy eksperymentalnej, takie jak:

- charakterystyki i podziału peptydów adresowanych do celów kosmetycznych;
- opisu problematyki związanej z metodami analitycznymi stosowanymi w pracy (spektrometria MALDI);
- charakterystyki uwalniania substancji aktywnych;



- dynamiki molekularnej wykorzystywanej przez Doktorantkę w pracach eksperymentalnych.

Szeroki wachlarz tematyczny prezentowany w tej części pracy wymagał od Doktorantki poznania literatury z wielu dziedzin i poradziła sobie z tym bardzo dobrze. Jednakże, mam w tym miejscu kilka uwag natury edytorskiej. Część literaturową rozpoczyna „Spis akronimów” sporządzony przez Doktorantkę. Zasady, którymi kierowała się Pani mgr A. Olejnik przygotowując go, nie są dla mnie do końca zrozumiałe, ponieważ z jednej strony znajdują się w nim akronimy wraz z objaśnieniami np. stosowanych w pracy metod badawczych, tj. ESI MS, czy MALDI MS, czy używanych tetrapeptydów, które i tak później wraz z użytymi skrótami pojawiają się w tekście pracy. Z drugiej strony brak w nim niektórych skrótów i wyjaśnień, np. FT-IR, czy wykorzystywanych matryc. Także zapis w tekście pracy nazwisk autorów cytowanych prac nie zawsze jest poprawny, np. str. 25, odnośnik literaturowy [78]: „, materiał SBA-15 otrzymany przez Stuckiego i wsp.”, choć autorem cytowanej publikacji jest G.D. Stucky.

Kolejny rozdział, cel pracy, jest sformułowany jasno i wyczerpująco, Autorka podaje także szczegółowo zadania, które zaplanowała do realizacji założonych w pracy celów.

W części eksperymentalnej (rozdział 4) Doktorantka dokładnie opisała metodykę pracy oraz scharakteryzowała zastosowane techniki badawcze.

Przedłożona przez Panią mgr Annę Olejnik praca doktorska koncentrowała się na opracowaniu skutecznej analitycznej metody oznaczania niskocząsteczkowych peptydów w formulacjach kosmetycznych, bez wstępnych i dodatkowych procesów przygotowania. Z wykorzystaniem spektrometrii mas w technice MALDI wykonała ona analizę serii komercyjnie dostępnych roztworów peptydów używanych jako składniki aktywne wybranych preparatów kosmetycznych. Nowatorstwo działań Doktorantki polega na bezpośrednim oznaczaniu niskocząsteczkowych peptydów obecnych w emulsjach z wykorzystaniem mezoporowatych materiałów typu SBA-15 jako matryc wspomagających, które wpływają na wzmocnienie intensywności sygnałów pochodzących od peptydów. Doktorantka stwierdziła także, że



materiały mezoporowate typu SBA-15 mogą być stosowane jako nośniki do kontrolowanego uwalniania niskocząsteczkowych peptydów. Wykazała, iż ilość uwolnionej substancji aktywnej zależy od rozmiaru porów materiałów mezoporowatych, im mniejsza średnica porów - tym wolniej zachodził proces uwalniania. Dodatkowo Pani mgr A. Olejnik wykazała, że polistyrenowe materiały modyfikowane grupami funkcyjnymi mogą być wykorzystywane do kontrolowania procesu uwalniania tetrapeptydów. Odpowiednio dobrana procedura modyfikacji nośnika pozwala na kontrolę kinetyki procesu uwalniania substancji aktywnej.

Autorka pracy doktorskiej w rozdziale 5, „Wyniki i dyskusja” opracowała metodykę badań uwalniania peptydów z formułacji kosmetycznych, które są uważane za bardzo przydatne w laboratoriach kontroli jakości do celów oceny efektywności działania preparatów kosmetycznych. W tym celu Doktorantka przygotowała różne formułacje, zbadała ich stabilność oraz określiła różnorodne parametry fizykochemiczne. Dodatkowo wykorzystowała metodę wielokrotnego rozpraszania światła do oceny homogeniczności preparatów. Analiza porównawcza wykazała, że najbardziej stabilną jest emulsja o/w przygotowana w temperaturze pokojowej, co jest spowodowane obecnością autoemulgatora, który wchodził w skład wyżej wymienionej emulsji.

W przedstawionej do oceny pracy Pani mgr Anna Olejnik określiła także zdolność dyfuzji substancji aktywnej z otrzymanych preparatów przez błony syntetyczne imitujące barierę skórną do roztworu o odpowiednim pH. Należy w tym miejscu podkreślić, że do wyjaśnienia wyników tych eksperymentów Doktorantka podjęła się scharakteryzowania błon syntetycznych za pomocą nowatorskich metod badawczych, m.in. mikroskopii sił atomowych, co pozwoliło wytłumaczyć wpływ zastosowanej membrany na profil uwalniania peptydów. Przeprowadzone badania uwalniania dwóch tetrapeptydów – AcPPYL i AcYPPF – wykazały, że rodzaj formułacji determinuje szybkość uwalniania, która jest ściśle związana z właściwościami reologicznymi formułacji (wraz ze wzrostem lepkości preparatu maleje szybkość uwalniania substancji aktywnych). Autorka wyznaczyła na podstawie równania Einsteina-Smoluchowskiego teoretyczny współczynnik dyfuzji, który jest zgodny z otrzymanymi wynikami eksperymentalnymi. Dodatkowo ocena przydatności membran syntetycznych do uwalniania



tetrapeptydów wykazała, że szybkość uwalniania peptydu dla błon na bazie celulozy jest następująca: octan celulozy 2 > nitroceluloza > octan celulozy > Cuprophan > estry celulozy. Doktorantka określiła także wpływ takich parametrów teksturalno - strukturalnych: wielkość porów, chropowatość oraz uporządkowanie struktury na zdolność dyfuzji peptydów z formułacji kosmetycznej do płynu akceptorowego. Wnioski sformułowane na końcu tego podrozdziału jednoznacznie wskazują na ogromny wpływ właściwego doboru rodzaju syntetycznej membrany przed rozpoczęciem właściwych badań.

Doktorantka podjęła także próbę wizualizacji oddziaływania peptydów z modelową błoną biologiczną. Rozważania teoretyczne miały na celu prześledzenie trajektorii ruchu peptydu w układzie zawierającym błonę lipidową oraz cząsteczki wody. Przeprowadzone symulacje dały jakościowy obraz oddziaływania tetrapeptydów z wybraną – modelową błoną lipidową. Pani mgr A. Olejnik wykazała, że peptyd obecny w fazie wodnej w trakcie trwania symulacji zbliża się do hydrofilowej części błony, jednak nie przenika w głąb membrany, z kolei umieszczony na granicy fazy wodnej i lipidowej krąży wokół własnej osi, zaś obecny w centrum błony nieznacznie zmienia swoje położenie w obrębie jej hydrofobowej części.

Praca doktorska jest napisana logicznie i poprawnym językiem. Nie dopatrzyłam się w niej istotnych błędów stylistycznych, ani sformułowań żargonowych, jednakże tabele 21 i 22 powinny mieć bardziej szczegółowo określone tytuły.

Założone cele w pracy zostały w pełni zrealizowane. Recenzowana praca autorstwa Pani mgr Anny Olejnik odnosi się do tematyki bardzo istotnej z punktu widzenia praktycznych zastosowań, a Autorka pracy zastosowała nowoczesny warsztat badawczy do rozwiązania postawionego celu pracy. Badania wykonane w ramach przedłożonej do recenzji pracy były współfinansowane zarówno z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Poddziałania 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki (stypendium z Wojewódzkiego Urzędu Pracy w Poznaniu w ramach projektu „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia Wielkopolski”) oraz również przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu promotorskiego nr N N204 403040. Zaprezentowany w pracy materiał jest



bardzo obszerny i zawarte w pracy wyniki mogą być podstawą do publikacji w czasopismach o randze międzynarodowej.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Anny Olejnik spełnia w pełni wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach w zakresie sztuki” (Dz. U. 2003, nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza o dopuszczenie Pani mgr Anny Olejnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Bogusława Kisiele