



Opole, 30 stycznia 2026 roku

prof. dr hab. Jacek Lipok

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Skoczeń

p.t.: ***Otrzymywanie i charakterystyka formulacji kosmetycznych zawierających
inkorporowane substancje z grupy laktonów seskwiterpenowych do nanocząstek
lipidowych***

przygotowanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,
pod kierunkiem
prof. dr hab. Izabeli Nowak

Dynamika badań naukowych dotyczących możliwości prozdrowotnego działania substancji aktywnych podawanych przezskórną, jak i wdrożeń opartych na zweryfikowanych wynikach tego typu prac, jest imponująca. Jedną z przyczyn tego stanu rzeczy jest widoczna w wielu aspektach spójność reguł postępowania, niezależnie od tego czy testowana substancja ma stać się lekiem, czy też kosmetykiem. Zatem tematyka tego typu badań jest w równym stopniu atrakcyjna z punktu widzenia nauk chemicznych i farmaceutycznych, co współczesnej kosmetologii. Zaś wartość poznawcza i aplikacyjna uzyskanych wyników, może mieć istotne znaczenie nie tylko dla wymienionych wcześniej obszarów aktywności naukowej. Szczególnie, kiedy przedmiotem badań stają się substancje, których pod tym względem wcześniej nie testowano. Z taką właśnie sytuacją mamy do czynienia w przypadku projektu doktorskiego Pani mgr Aleksandry Skoczeń, która z sukcesem, czego dowodem jest również niniejsza dysertacja, zajęła się dwiema substancjami aktywnymi; kostunolidem oraz laktonem dehydrokostusowym, reprezentującymi laktony seskwiterpenowe.

Zdecydowana większość spośród ponad pięciu tysięcy poznanych do tej pory substancji zaliczanych do grupy laktonów seskwiterpenowych, to pochodne występujące naturalnie w tkankach roślin z rodziny astrowatych. Kostunolid znany od lat 60-tych dwudziestego wieku, kiedy to został wyodrębniony z korzeni azjatyckiej rośliny *Dolomiaea*

costus (Falc.), jest hydroksylowaną i utlenioną enzymatycznie pochodną (+) germakrenu A. Z kolei lakton dehydrokostusowy jest jednym z głównych składników olejku eterycznego z himalajskiej rośliny *Saussurea lappa* (Falc.) i strukturalnie reprezentuje pochodne gwajanu. Rośliny będące naturalnymi źródłami obu wymienionych substancji są szeroko stosowane w medycynie chińskiej, w której należą do pięćdziesięciu tzw. ziół podstawowych, a także w medycynie ajurwedyjskiej oraz w medycynie bliskiego wschodu. Składnikom tych roślin przypisuje się korzystne działanie w przypadku leczenia stanów zapalnych, astmy oraz niektórych nowotworów. W przypadku tych ostatnich przede wszystkim z uwagi na kilka komplementarnych, potwierdzonych współcześnie mechanizmów hamowania podziału komórek, bądź wręcz indukowania procesu ich apoptozy.

Nieprzypadkowy, jak wskazano, dobór testowanych, lipofilowych laktonów seskwiterpenowych, jak i znane ograniczenia przenikania tego typu substancji przez warstwę rogową naskórka sprawiły, że Doktorantka postanowiła wykorzystać znakomite doświadczenia swojego macierzystego zespołu, którym kieruje Pani prof. dr hab. Izabela Nowak, i połączyć testowane laktony z nanocząstkami lipidowymi, jako nośnikami. W ten sposób zasadniczym celem prac badawczych, których efektem jest ocena dysertacji stało się otrzymanie różnych formułacji zawierających stałe nanocząstki lipidowe (SLN), kostunolid lub lakton dehydrokostusowy, a następnie charakterystyka tych matryc oraz optymalizacja ich właściwości fizykochemicznych. Warty szczególnej uwagi jest również dobrze wyeksponowany, aplikacyjny cel i wątek tego projektu.

Od strony formalnej rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Skoczeń, której ocenę powierzyła mi Rada Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, została przygotowana w języku polskim, w formie klasycznej monografii liczącej łącznie 179 stron. W strukturze dysertacji wyodrębniono dwanaście rozdziałów, wśród których znalazły się rozdziały klasycznie związane z organizacją rozprawy doktorskiej właściwą dla nauk eksperymentalnych (1-9, 11) oraz zwyczajowo uznana prezentacja osiągnięć naukowych Doktorantki (10). Specyficznym rozdziałem, z uwagi na aplikacyjny charakter części badań, jest rozdział 12, w którym zaprezentowano wzory dokumentów przeznaczonych dla uczestników badań aplikacji formułacji kosmetycznych, wytworzonych przez Autorkę. Jedynym mniej typowym elementem struktury pracy, oczywiście w opinii recenzenta, jest przeniesienie wykazu rysunków i tabel (rozdział 11) poza ścisłe omówienie idei, metodologii oraz wyników badań naukowych, którym towarzyszy wykaz źródeł prezentowanych informacji. Tym bardziej, że wykaz osiągnięć naukowych Doktorantki (rozdział 10) obejmuje szerszy zakres Jej naukowej aktywności, niż ten związany z projektem doktorskim.

Należy jednak podkreślić, że w omawianej pracy zamieszczono wszystkie niezbędne informacje wymagane w tego rodzaju opracowaniach, takie jak: spis treści, streszczenia w języku polskim i angielskim, listę stosowanych skrótów i akronimów, prezentację tematyki i koncepcji badań, wyodrębniony i bardzo zwarty cel przeprowadzonych badań, opis metod i technik stosowanych w pracach doświadczalnych, omówienie wyników zakończone podsumowaniem i wnioskami, wykaz źródeł literaturowych, spis tabel i grafik oraz wykaz osiągnięć naukowych Doktorantki. Układ rozprawy jest czytelny i odpowiada przyjętej koncepcji prezentacji osiągnięć Autorki w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy.

Odnosząc się do sposobu przekazu informacji chciałbym zauważyć, że Autorkę cechuje żywy język, wyrażający Jej emocjonalny stosunek do tekstu dysertacji i prowadzonych badań. Przykładem tego może być określenie polidispersyjności nanocząstek uzyskanych metodą emulsji wielokrotnej (W/O/W) i zmian tego parametru jako „...dramatyczne pogorszenie jednorodności...”. Warto również podkreślić bardzo staranną szatę graficzną opracowania, która dzięki zastosowaniu grafik, kolorów tekstu, stosownych pogrubień i znaczników tła, ułatwia odnajdywanie stosownych informacji. Nietrudno też zauważyć, że szczególnie ulubionymi kolorami Autorki są różne odcienie fioletu i różu, co jest niewątpliwie atrakcyjnym elementem szaty graficznej dysertacji, niemniej w przypadku analizy danych prezentowanych na wykresach liniowych różnych typów, dla Recenzenta, dla którego rozeznanie kolorów ogranicza się do barw podstawowych, było prawdziwym wyzwaniem. Stąd gorąca prośba do Doktorantki, o wprowadzenie w przyszłości wyraźnych różnic w kolorach wykresów prezentujących różne zestawy danych.

Nawiązując do kwestii najbardziej istotnej – warstwy merytorycznej ocenianej dysertacji należy zauważyć, że Doktorantka skoncentrowała się na opracowaniu, charakterystyce i ocenie właściwości nanocząstek lipidowych zawierających biologicznie czynne laktony seskwiterpenowe — kostunolid lub lakton dehydrokostusowy — oraz na zastosowaniu ich w formulacjach kosmetycznych, których właściwości poddano ocenie *in vivo*. Można zatem uznać, że projekt badawczy Pani mgr Aleksandry Skoczeń obejmował wszystkie etapy tworzenia nośników: od syntezy i optymalizacji ich składu, przez ocenę stabilności, enkapsulacji i uwalniania, aż po określenie efektywności preparatów kosmetycznych w testach z udziałem ludzi. W toku doświadczeń opracowano sześć wariantów dyspersji nanolipidowych różniących się sposobem wytworzenia, które zostały kompleksowo scharakteryzowane z wykorzystaniem metod instrumentalnych. Jednym z bardziej interesujących wyników tej części doświadczeń było stwierdzenie (dzięki zastosowaniu metod termicznych i rentgenowskich), że dążenie do uzyskania jednorodnej grupy nanocząstek lipidowych na drodze homogenizacji wysokociśnieniowej na gorąco (metoda NPH) prowadzi do powstania mniejszych i bardziej jednorodnych nanostruktur

lipidowych, co wraz z amorficznością nośnika sprzyjało lepszemu wiązaniu testowanych laktonów – szczególnie kostunolidu. Co również istotne, Autorka udowodniła, że profil uwalniania laktonów inkorporowanych do SLN jest znacznie korzystniejszy, niż profil uwalniania samych testowanych substancji aktywnych. Równie korzystne okazały się właściwości przeciwutleniające testowanych inkorporowanych laktonów, spośród których szczególnie kostunolid wykazał bardzo umiarkowaną, ale mierzalną aktywność antyoksydacyjną. Ważnym okazało się także stwierdzenie, że włączenie tych substancji do nanostruktur lipidowych zwiększyło ich stabilność i efektywność działania w układach kosmetycznych.

Jako osoba, której nieobce są zagadnienia analityki chemicznej, chciałbym także zwrócić uwagę na zestaw wyników, który doprowadził Doktorantkę do słusznej w tym przypadku konkluzji, iż omówione w rozdziale dedykowanym stosowanym metodom, a następnie przeprowadzone oznaczenia z użyciem odczynnika Folina–Ciocâlteu oraz FRAP, okazały się nieodpowiednie do określania właściwości przeciwutleniających testowanych laktonów seskwiterpenowych. Pozostając w obszarze kwestii analitycznych chciałbym jednak zapytać o powód zastosowania metody Folina–Ciocâlteu, w sytuacji, w której żaden z testowanych laktonów nie zawierał klasycznych ugrupowań fenolowych w strukturze?

Interesującą kwestią, biorąc pod uwagę specyficzną aktywność biologiczną testowanych laktonów seskwiterpenowych, jest stereochemia tych substancji. Kostunolid posiada dwa centra stereogeniczne, natomiast lakton dehydrokostusowy – aż cztery centra tego rodzaju. Jeżeli substancje zakupione do testów były związkami występującymi naturalnie i izolowanymi z matryc roślinnych – powinny być określonymi enancjomerami. Jeśli zaś były to związki pozyskane w toku klasycznej syntezy chemicznej, można założyć, że substancje były mieszaninami stereoizomerów. Czy dostępne są informacje na ten temat oraz czy Doktorantka rozważała konsekwencje ewentualnej aktywności poszczególnych enancjomerów testowanych laktonów?

Nawiązując po raz kolejny do zagadnień analitycznych, nie mniej interesującą kwestią jest istotna różnica składu chemicznego płynu akceptorowego oraz roztworu, w którym rozpuszczono testowane laktony w celu wyznaczenia krzywej wzorcowej. O ile możliwe jest rozpuszczenie podanych ilości lipofilowych laktonów we wskazanej mieszaninie buforu fosforanowego z alkoholem etylowym, o tyle rozpuszczenie tych samych substancji w płynie akceptorowym – w wodnym buforze fosforanowym, może być bardzo utrudnione. Czy zatem określono rozpuszczalność laktonów w płynie akceptorowym? Ponadto, czy w trakcie chromatograficznych (HPLC) oznaczeń ilościowych np. wyznaczanie krzywych wzorcowych, zastosowano przepływ izokratyczny, czy gradientowy?

Ponieważ do obowiązków Recenzenta należy także ocena rozprawy pod kątem spójności i jakości edycji treści, pragnę zauważyć, że i w tym utworze znajdują się nieznaczące uchybienia tego rodzaju. Tymi, które jakkolwiek zwróciły moją uwagę były:

Str.13 vs str. 20; w wykazie skrótów (str. 13) LN opisano jako „nanonośniki lipidowe”, natomiast na stronie 20 skrót został zastosowany jako odpowiadający pojęciu „nanocząstki lipidowe” – zgodnie z podaną przez Autorkę nazwą oryginalną „lipid nanoparticles”. Biorąc pod uwagę, że pojęcia „nanonośnik” oraz „nanocząstka” nie są tożsame, które z nich wiązane jest ze skrótem LN?

Str. 24; na rysunku 4.6 zobrazowano opisane w tym podrozdziale zależności dynamiki uwalniania substancji aktywnych w czasie, w odniesieniu do rozmieszczenia SA w obrębie nanocząstek nośnika. Czy wykres prezentujący „przedłużone uwalnianie”, zestawiony z dwoma pozostałymi, rzeczywiście przedstawia tę sytuację?

Str. 61; w tabeli 6.2 znalazło się określenie „Natężenie przepływu fazy ruchomej”, które stosowane do opisu przepływu cieczy w procedurze analitycznej jest w pełni poprawne tylko w przypadku określenia także pola przekroju poprzecznego strumienia. Ze względu na obecność złoża separacyjnego tzw. wypełnienia kolumny, które nie jest w pełni homogenne, w praktyce chromatograficznej częściej stosuje się termin „prędkość przepływu fazy ruchomej”.

Str. 67; wbrew informacji podanej w pierwszym akapicie na rys. 6.5 na pewno nie zaprezentowano wymienionego układu HPLC Varian 920-LC, a inne urządzenia zgodnie z opisem załączonym pod tym rysunkiem.

Str. 78; w opisie oceny makrorzeźby skóry pojawiła się informacja o końcowym działaniu prowadzonym w ostatnim tygodniu testu *in vivo*, wskazanym w nawiasie jako (tydzień 4). Tymczasem w innych opisach tego doświadczenia Autorka podaje czas ośmiu tygodni jako okres testów. Proszę o wyjaśnienie, czy chodzi o czwarty, czy o ósmy tydzień.

Str. 90; w tabeli 7.4 przypisano różny wymiar wartościom entalpii ΔH_1 oraz ΔH_2 , odpowiednio [J/G] oraz [J/g]. Zakładając, że charakter prowadzonych badań nie wymagał zastosowania stałej grawitacji (liczba Newtona) „G”, uważam tę pomyłkę za błąd redakcyjny.

Str.133; począwszy od rys. 7.32 Doktorantka prezentuje wykresy odnoszące się do zmian mierzonych parametrów skóry, podając wartości procentowe z dokładnością do nawet setnych części. Tymczasem na żadnym ze stosownych wykresów nie wprowadzono informacji wskazujących na wartości błędów oznaczeń, a tym samym istotność różnic pomiędzy prezentowanymi danymi. W ten sposób wartość poznawcza wyników tej części badań może być dyskusyjna, co jest o tyle istotne, że dotyczy mierzalnych walorów zastosowania *in vivo* formułacji kosmetycznych, przygotowanych przez Autorkę z takim nakładem starań.

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Skoczeń chciałbym stwierdzić, iż sformułowane prośby dotyczące wyjaśnienia niektórych kwestii, poczynione uwagi oraz komentarze, nie zmieniają mojej jednoznacznie pozytywnej oceny niniejszej dysertacji. Uważam, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki są oryginalne i wartościowe, szczególnie jako wstęp do bardziej zaawansowanych studiów aplikacyjnych, a dalej do wdrożenia rezultatów Jej badań. Wskazuje na to również dobór czasopism, w których opublikowano wyniki projektu doktorskiego oraz tematyka konferencji krajowych i międzynarodowych, w których Doktorantka aktywnie uczestniczyła.

Uznając zatem oryginalność tematyki oraz wartość uzyskanych wyników jako spełniające formalne i zwyczajowe wymagania stawiane dysertacjom doktorskim stwierdzam, że w moim przekonaniu niniejsza rozprawa 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 warunki ujęte w art. 187, ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.(Dz. U. z 2023r. poz. 742 ze zm.).

Biorąc pod uwagę moją jednoznacznie pozytywną ocenę niniejszej dysertacji oraz dorobku naukowego Doktorantki, wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Skoczeń, do kolejnych etapów postępowaniu wiodącego do nadania stopnia doktora.