

Załącznik nr 3

dr inż. Elżbieta Sikora

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej
Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki
Kraków 2019

Autoreferat

SPIS TREŚCI

1	Imię i Nazwisko	4
2	Wykształcenie i stopnie naukowe	4
3	Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	4
4	Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego	5
	4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	5
	4.2. Wykaz jednotematycznych prac naukowych (artykułów naukowych, monografii, patentów i zgłoszeń patentowych oraz wdrożeń) stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego	5
	4.3. Omówienie celu naukowego oraz najważniejszych wyników i osiągnięć zawartych w w/w pracach wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	7
	4.4. Najważniejsze osiągnięcia i elementy nowości naukowej	21
	4.5. Spis cytowanej literatury (oprócz prac wymienionych w pkt. 4.2.)	21
5	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	27
	5.1. Dane bibliometryczne ^a	28

1 IMIĘ I NAZWISKO

Elżbieta Sikora

2 WYKSZTAŁCENIE I STOPNIE NAUKOWE

Doktorat 1998 r. – doktor nauk technicznych

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Rozprawa doktorska pt: „Badanie procesu konwersji alkoholi metylowego i izobutyłowego do eterów”

Promotor: Prof. dr hab. inż. Jan Ogonowski

Magister 1992 r. – magister inżynier

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Praca magisterska pt: „Transalkilacja toluenu do benzenu i ksylenów. Doświadczalne badanie izomeryzacji ksylenów”

Promotor: dr hab. inż. Andrzej Wolf

3 INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Kierownik zespołu badawczego „Chemia i Technologia Kosmetyków” od 2013 r.

Adiunkt naukowo-dydaktyczny od 1999 r.

Instytut Chemii i Technologii Organicznej

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Warszawska 24, 31-155 Kraków

Asystent naukowo-dydaktyczny od 1997 r.

Instytut Chemii i Technologii Organicznej

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Warszawska 24, 31-155 Kraków

Asystent naukowy od 1993 r.

Instytut Chemii i Technologii Organicznej

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Warszawska 24, 31-155 Kraków

Starszy referent techniczny od 1992 r.

Instytut Chemii i Technologii Organicznej

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Warszawska 24, 31-155 Kraków

4 WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.) jest jednotematyczny cykl publikacji naukowych i monografia naukowa oraz patenty, zgłoszenie patentowe i wdrożenia rezultatów przeprowadzonych badań.

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Surowce pochodzenia naturalnego w nowoczesnych formułacjach kosmetycznych”.

4.2. Wykaz jednotematycznych prac naukowych (artykułów naukowych, monografii, patentów i zgłoszeń patentowych oraz wdrożeń) stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego

Lp.	Publikacja (Podkreślono autora do korespondencji)	IF w roku wydania	Wkład autorski	Liczba cytowań ^a
1R	<u>E. Sikora</u> , P. Michorczyk, M. Olszańska J. Ogonowski, <i>Supercritical CO₂ extract from strawberry seeds as a valuable, component of mild cleansing compositions</i> , International Journal of Cosmetic Science, 37(6), 2015, 574-578.	1,377	80 (%)	4
2R	<u>E. Sikora</u> , M. Olszańska, J. Ogonowski, <i>Wpływ dodatku wybranych ekstraktów roślinnych, otrzymanych przez ekstrakcję CO₂ w warunkach nadkrytycznych, na właściwości szamponów do włosów</i> , Przemysł Chemiczny, 93(2), 2014, 212–216.	0,399	80(%)	1
3R	<u>E. Sikora</u> , J. Ogonowski, P. Lulek, <i>Zastosowanie ekstraktów z nasion czarnej porzeczki i truskawki, otrzymanych w warunkach nadkrytycznego CO₂, w łagodnych kompozycjach myjących</i> , Przemysł Chemiczny, 93(3), 2014, 339–342.	0,399	70(%)	1
4R	<u>E. Sikora</u> , M. Llinas, M.J. Garcia-Celma, E. Escibano, C. Solans, <i>Transdermal delivery of forskolin from emulsions differing in droplet size</i> , Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015, 126, 541–545.	4,152	55 (%)	6
5R	<u>M. Jaworska</u> , <u>E. Sikora</u> , M. Zielina, J. Ogonowski, <i>Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification method, suitable for cosmeceutical applications</i> , Acta Biochimica Polonica, 4, 2013, 779–782.	1,389	30(%)	12
6R	M. Miastkowska, <u>E. Sikora</u> , E. Lasoń, M.J. Garcia-Celma, E. Escibano-Ferrer, C. Solans, M. Llinas, <i>Nano-emulsions as vehicles for topical delivery of forskolin</i> , Acta Biochim Pol. 64(4), 2017, 713-718, IF = 1.159	1,159	20%	1
7R	<u>E. Lasoń</u> , <u>E. Sikora</u> , J. Ogonowski, M. Tabaszewska, Ł. Skoczyla, <i>Release study of selected terpenes from nanostructured lipid carriers</i> , Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspect., 2016, 510, 87-92,	2,829	15%	5
Łącznie		11,7	50,0%	
Średnia – na publikację		1,67		

Lp.	Monografia w języku angielskim	Liczba pkt MNiSW	Wkład autorski	Liczba cytowań ^a
8R	E. Sikora, <i>Cosmetic Emulsion</i> , Wydawnictwo PK, Kraków 2019, ISBN 978-83-65991-50-8	80	100%	-
Lp.	Patenty			
9R	Patent nr 224161, M. Tabaszewska, E. Sikora, Preparat kosmetyczny do pielęgnacji skóry, 2016	30	49%	-
10R	Patent nr 224853, Sposób wytwarzania preparatu kosmetycznego zawierającego ekstrakt z kwiatostanów bzu czarnego, M. Tabaszewska, E. Sikora, Ł. Skoczylas, 2016	30	45%	-
11R	Patent nr 230996, Nowa pochodna alkoholu lupeolu, M. Malinowska, E. Sikora, J. Ogonowski, 2018	30	30%	-
12R	Patent, nr 232678, Formulacja nanostrukturalnych nośników lipidowych i sposób jej wytwarzania, E. Lasoń, E. Sikora, J. Ogonowski, decyzja UPRP o udzieleniu patentu z dnia 25.03.2019	30	35%	-
13R	Patent na zgłoszenie nr P.413255, Formulacja nanostrukturalnych nośników lipidowych i sposób jej wytwarzania, E. Lasoń, E. Sikora, J. Ogonowski, decyzja UPRP o udzieleniu patentu z dnia 25.06.2019	30	35%	-
Średnia – na publikację		-	38,8%	-

^a w oparciu o Scopus 23.04.2019

W pracach [1R - 4R] byłam autorem koncepcji badań, większą część badań wykonywałam osobiście, pisałam artykuły, które przed opublikowaniem były dyskutowane ze współautorami. W pracach [5R – 7R] byłam współautorem koncepcji badań, dyskutowałam wyniki, jestem współautorem tekstu, wraz z pozostałymi autorami uczestniczyłam w redagowaniu ostatecznej wersji oraz w korekcie tekstu publikacji przed i po recenzjach. W pracach [1R–4R, 6R] prowadziłam korespondencję z edytorem czasopisma oraz przygotowywałam odpowiedzi na recenzje. W przypadku pracy [8R] jestem autorem monografii, w całości napisałam i redagowałam tekst oraz prowadziłam korespondencję z redaktorem naukowym, recenzentami i redakcją wydawnictwa.

W przypadku patentów [9R i 10R] byłam współautorem koncepcji badań, mój udział polegał na opracowaniu receptur opatentowanych preparatów kosmetycznych, (wybór jakościowy i ilościowy surowców, opracowanie parametrów procesu emulsyfikacji), badaniu właściwości fizykochemicznych i użytkowych opracowanych produktów oraz współuczestnictwie w merytorycznym przygotowaniu opisów patentowych, konsultacjach i korespondencji z rzecznikiem patentowym. W przypadku prac [11R – 13R] byłam współautorem koncepcji badań, nadzorowałam realizację eksperymentów, konsultowałam i dyskutowałam uzyskane wyniki, uczestniczyłam w redagowaniu tekstu zgłoszenia i korekcie ostatecznej wersji wysłanej do Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej (UPRP). Ponadto prowadziłam korespondencję z Rzecznikiem Patentowym i odpowiadałam na wątpliwości Eksperta z Urzędu Patentowego.

Kopie prac naukowych i patentów stanowiących jednotematyczny cykl publikacji wraz z oświadczeniami współautorów i wyszczególnieniem wkładu indywidualnego autorów zamieściłam odpowiednio w Załącznikach nr 5 i 6. W załączeniu do niniejszego wniosku dołączony jest również egzemplarz w/w monografii [8R].

4.3. Omówienie celu naukowego oraz najważniejszych wyników i osiągnięć zawartych w w/w pracach wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.3.1. ISTNIEJĄCY STAN WIEDZY W ZAKRESIE TEMATU PRACY

Przemysł kosmetyczny jest jedną z prężnie rozwijających się gałęzi gospodarki. Współczesny rynek stawia produktom kosmetycznym coraz wyższe wymagania. Rośnie zapotrzebowanie na wielofunkcyjne, bezpieczne w stosowaniu, innowacyjne surowce, przede wszystkim pochodzenia naturalnego, oraz całkowicie bezpieczne i efektywnie działające produkty. W 2018 roku wartość rynku naturalnych produktów kosmetycznych szacowano na poziomie 34,5 mld USD. Podczas gdy w 2027 roku sprzedaż kosmetyków naturalnych ma osiągnąć wartość 54,5 mld USD [1].

Surowce roślinne mogą stanowić zarówno bazowe składniki preparatów kosmetycznych, jak również źródło substancji aktywnych biologicznie, wywierających bezpośrednio wpływ na stan skóry i włosów. Pod względem chemicznym stanowią one złożone mieszaniny substancji czynnych: glikozydów, garbników, terpenoidów, żywic, śluzów, fitohormonów czy fitosteroli. Za specyficzne działanie surowca zwykle odpowiada zespół składników znajdujących się w danym surowcu [2]. Surowce roślinne znajdują zastosowanie w prawie wszystkich rodzajach kosmetyków. Wchodzą w skład kosmetyków do mycia, kosmetyków pielęgnacyjnych, kosmetyków upiększających czy wyrobów perfumeryjnych. W zależności od rodzaju i zawartości substancji czynnych przeznaczone są do pielęgnacji różnego typu skóry i włosów.

Należy podkreślić, że sposób pozyskiwania surowców roślinnych wpływa na ich właściwości. Substancje czynne z surowców naturalnych wyodrębniane są za pomocą różnych metod m.in.: wyciągania, w procesach ekstrakcji czy destylacji z parą wodną. Surowiec wyjściowy stanowią świeże lub suszone rośliny, w całości lub poszczególne ich części (kwiaty, owoce, nasiona, liście, korzenie, kłącza czy kory). Procesy ekstrakcji mogą być prowadzone okresowo lub w sposób ciągły, przy zastosowaniu rozpuszczalników różniących się polarnością.

Wśród stosowanych metod na uwagę zasługuje ekstrakcja wspomaganą micelarnie (MME) dodatkowo prowadzona w polu ultradźwiękowym UAMME (*ultrasonic assisted micelle-mediated extraction*) [3]. Zastosowanie w procesie MME różnych układów micelarnych pozwala dodatkowo na zwiększenie selektywności w pozyskiwaniu wybranej grupy aktywnych związków chemicznych, w efekcie w eliminowaniu związków o potencjalnym działaniu alergizującym [4–6].

Stosunkowo nową techniką, wykazującą w porównaniu z tradycyjnymi metodami wiele korzyści, jest ekstrakcja surowca roślinnego płynami w stanie nadkrytycznym (np. CO₂). Proces charakteryzuje się dużą wydajnością, a uzyskane produkty nie zawierają pozostałości konwencjonalnych rozpuszczalników organicznych. Ponadto ekstrakcję w warunkach nadkrytycznych CO₂ prowadzi się w stosunkowo niskich temperaturach (10–70°C), w atmosferze beztlenowej, co pozwala uniknąć termicznego rozkładu i utleniania bioaktywnych składników zawartych w ekstrakcie [7–9].

Oprócz wysokiej jakości surowców jednym z istotniejszych warunków uzyskania optymalnej skuteczności kosmetyku jest opracowanie formułacji, która pozwoli na dostarczanie substancji aktywnych, zawartych w kosmetyku w głąb skóry. Dlatego przy tworzeniu nowoczesnych receptur ważna jest umiejętność przewidywania zdolności substancji do przenikania przez skórę [10, 11].

Główną i podstawową barierą dla związków aktywnych przenikających przez skórę jest warstwa rogowa naskórka (*stratum corneum*), która dzięki swojemu lipofilowemu charakterowi oraz zwartej strukturze uniemożliwia penetrację cząsteczek w głąb skóry. Właściwości fizykochemiczne *stratum corneum* można modyfikować poprzez zastosowanie w recepturze kosmetyku promotorów transportu przeznaskórkowego, które odwracalnie zmieniają strukturę cementu

międzykomórkowego, poprawiając jego przenikalność. Przyjmuje się, że dyfuzja substancji aktywnych przez skórę może zachodzić na dwa sposoby: drogą wewnątrzkomórkową i międzykomórkową. Czynnikiem determinującym dyfuzję związku aktywnego przez skórę będą więc jego właściwości fizykochemiczne: masa cząsteczkowa, lipofilowość czy polarność. Wraz ze wzrostem powinowactwa składnika aktywnego do lipidowej warstwy naskórka rośnie jego zdolność penetracji przez *stratum corneum*, natomiast większość związków o charakterze hydrofilowym ma znacznie ograniczoną możliwość penetracji do skóry [12, 13]. Choy YB, and Prausnitz MR zaproponowali tzw. "Rule of Five", pięć najistotniejszych czynników, które wpływają na przenikanie substancji aktywnych do skóry [14]. Wśród wymienionych właściwości substancji dyfundującej istotną rolę odgrywa jej masa cząsteczkowa (powinna być mniejsza od 500 Da), lipofilowość (wartość logarytmu ze współczynnika podziału, (logP), powinna zawierać się w granicach 1–5) czy rozpuszczalność w polarnych czy niepolarnych rozpuszczalnikach (powyżej 1 mg/mL) [14–16].

Wśród czynników wpływających na transport przez naskórkowy substancji aktywnych należy również wymienić formę fizykochemiczną kosmetyku. Dobrze zaprojektowane podłoże (nośnik substancji aktywnej), stanowi podstawę skutecznie działającego preparatu kosmetycznego. Baza kosmetyku, podobnie jak farmaceutyku, może wpływać na wzrost aktywności substancji czynnej. Większość opisanych w literaturze badań przeprowadza się pod kątem optymalizacji składu nośników (formulacji bazowych) w celu zwiększenia przenikania składników aktywnych przez skórę [17–19].

Emulsje stanowią najbardziej popularną formę fizykochemiczną preparatów kosmetycznych, która skutecznie wspomaga utrzymanie równowagi wodno-lipidowej w skórze, a dodatkowo wykazuje zdolność transportu substancji aktywnych, zarówno polarnych, jak i niepolarnych, w głębsze warstwy skóry, co podnosi efektywność działania kosmetyków. Przy czym zarówno rodzaj emulsji (W/O vs. O/W), rozmiar kropli fazy zdyspergowanej, rodzaj zastosowanego emolientu [19–22], system surfaktant/ko-surfaktant [19, 23–24] oraz obecności surowców wspomagających transport przez naskórkowy [25–27], wpływają na przenikanie substancji czynnych do skóry.

Oprócz klasycznych emulsji, wśród form produktów kosmetycznych pojawiają się również inne nośniki substancji aktywnych, takie jak emulsje wielokrotne, mikro- i nanoemulsje [19, 28–30], nanodispersje, mikrokapsułki, liposomy, nanostrukturalne nośniki lipidowe (NLC) [31, 32] czy kapsułki polimerowe [15, 33]. Ich zaletą jest fakt, że nie tylko pozwalają na dostarczenie substancji czynnej do pożądanego miejsca w skórze, ale także zmniejszają potencjalne podrażnienia skóry lub chronią niestabilne surowce przed uszkodzeniami powodowanymi przez czynniki środowiskowe.

Podsumowując, obecnie oprócz bezpieczeństwa i odpowiednich właściwości aplikacyjnych od nowoczesnych produktów kosmetycznych oczekuje się przede wszystkim skuteczności działania.

4.3.2. CEL PODJĘTYCH BADAŃ

Celem podjętych badań, w odpowiedzi na zapotrzebowanie rynku, było opracowanie receptur produktów kosmetycznych na bazie innowacyjnych, bezpiecznych w stosowaniu surowców kosmetycznych naturalnego pochodzenia, spełniających standardy COSMOS [34] oraz wyjaśnienie jaki wpływ na efektywność działania kosmetyków mają zarówno forma fizykochemicznej produktu, jak i właściwości surowców.

4.3.3. EKSTRAKTY Z NASION OWOCÓW JAGODOWYCH POZYSKANE W WARUNKACH NADKRYTYCZNEGO CO₂ JAKO SUROWCE W PRODUKTACH KOSMETYCZNYCH

Oleje roślinne, stanowiące źródło triglicerydów kwasów tłuszczowych, od lat stosowane są jako podstawowe emolienty kosmetyczne, których rola polega na nawilżeniu skóry poprzez wbudowywanie się w struktury lipidów cementu międzykomórkowego i zwiększanie lipofilowości warstwy rogowej naskórka, w efekcie ograniczeniu transepidermalnego ubytku wody (TEWL). Jak już wspomniałam, współczesny rynek stawia produktom kosmetycznym coraz wyższe wymagania. Oleje roślinne wpisują się w aktualne trendy rynkowe jako wielofunkcyjne, bezpieczne w stosowaniu surowce pochodzenia naturalnego. Oprócz właściwości nawilżających, dodatkowo wykazują działanie odżywcze, regenerujące, przeciwzapalne czy przeciwdrobnoustrojowe. W bogatej ofercie na rynku pojawiają się nowe, efektywnie działające, bardzo często egzotyczne, tłuszcze roślinne: np. olej moringa, tamanu, karanja, kukui, buriti, cupuacu, oleje z nasion marakui, granatu czy arbuza [35, 36]. Należy podkreślić, że stosunkowo wysoka cena naturalnych olejów nie jest czynnikiem limitującym ich zastosowanie. Z badań europejskiego rynku konsumenckiego wynika, że dla respondentów wysoka jakość i efektywność działania kosmetyków są ważniejsze niż cena [36].

Z powodzeniem do grupy surowców stanowiących źródło aktywnych lipidów można zaliczyć oleje pozyskiwane z nasion owoców jagodowych, takich jak czarna porzeczka, malina, truskawka, jeżyna czy aronia. Na podkreślenie zasługuje fakt, że spośród krajów Unii Europejskiej, Polska jest największym producentem owoców jagodowych. W 2016 roku produkcję tych owoców szacowano na ponad 560 tys. ton, z czego ponad 84% przypada na trzy główne gatunki: porzeczkę, malinę i truskawkę [37]. Jako produkt uboczny przy przetwórstwie owoców na soki i koncentraty pozostają wytloki. Zawierające 10–30% tłuszczu nasiona stanowią od 30 do 50% masy wytlóków. Odzyskiwanie z pozostałości poprodukcyjnej tłuszczu wpisuje się w ekologiczny trend dotyczący również surowców kosmetycznych.

W skład olejów z nasion owoców jagodowych wchodzi zarówno triglicerydy niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), jak również bioaktywne substancje takie jak fosfolipidy, tokoferole, karotenoidy, fitosterole czy fitohormony [1R, 38–40]. Zawartość poszczególnych składników biologicznie aktywnych w olejach zależy od wielu czynników, przede wszystkim od rośliny stanowiącej źródło tłuszczu, nie mniej istotny jest sposób pozyskiwania oleju.

Tradycyjne technologie otrzymywania olejów roślinnych obejmują procesy tłoczenia na zimno i/lub ekstrakcję selektywnym rozpuszczalnikiem, np. izoheksanem. Interesującą alternatywę dla surowców pozyskiwanych tradycyjnymi metodami stanowią oleje otrzymane w procesie ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych ditlenku węgla (SC-CO₂). Parametry prowadzenia procesu ekstrakcji pozwalają na uzyskanie produktów o bardzo wysokiej czystości, wolnych od zanieczyszczenia konwencjonalnymi rozpuszczalnikami. Ponadto stosunkowo niskie temperatury oraz atmosfera beztlenowa pozwalają uniknąć utleniania oraz termicznego rozkładu bioaktywnych składników zawartych w olejach [7, 41].

Profil kwasów tłuszczowych w wybranych olejach pozyskiwanych z nasion owoców jagodowych w warunkach nadkrytycznego CO₂ przedstawiono w tabeli numer 1. Na szczególną uwagę zasługuje wysoka zawartość triglicerydów kwasów linolowego i alfa-linolenowego, a w przypadku oleju z nasion czarnej porzeczki kwasu gama-linolenowego [1R, 42, 43].

Tabela 1. Struktura kwasów tłuszczowych w ekstraktach SC- CO₂ z nasion truskawki (T), czarnej porzeczki (P), jeżyny (J) i aronii (A).

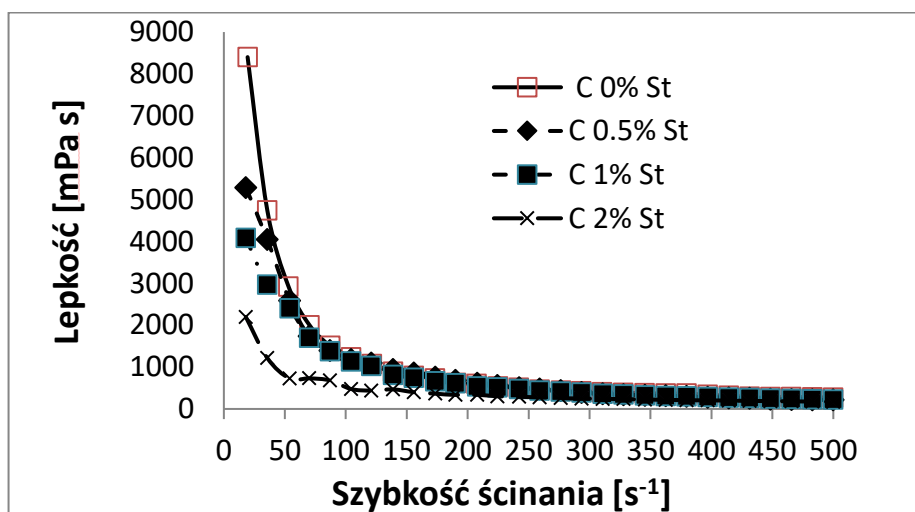
Symbol numeryczny kwasu tłuszczowego	Nazwa kwasu	% (w/w) całkowitej zawartości kwasów w olejach			
		T	P	J	A
C16:0	Palmitynowy	3.7±0.1	5.6±0.1	11.5±0.9	4.5±0.1
C16:1	Palmitoleinowy	0.2±0.0	-	-	-
C18:0	Stearynowy	1.4±0.1	1.7±0.0	3.7±0.3	0.9±0.1
C18:1n-9	Oleinowy	15.7±0.4	12.2±0.2	10.9±0.1	16.4±0.0
C18:2n-6	Linolowy	46.3±0.2	44.7±0.,2	44.3±1.5	68,8±0.0
C18:3n-3	α-linolenowy	31.5±0.3	16.0±0.1	25.1±0.1	7,8±0.0
C18:3n-6	γ-linolenowy	-	14.9±0.3	-	-
C18:4n-3	Stearidonowy	-	3.5±0.1	-	-
C20:0	Arachidowy	0,8±0,1	0,2±0,0	2,3±0,1	-
C20:1	Eikozenowy	0,3±0,0	1,2±0,0	2,1±0,0	-

4.3.3.1 EKSTRAKTY Z NASION OWOCÓW JAGODOWYCH POZYSKANE W WARUNKACH NADKRYTYCZNEGO CO₂ JAKO WIELOFUNKCYJNE SUROWCE W KOMPOZYCJACH MYJĄCYCH

Biorąc pod uwagę oczekiwane funkcje ekstraktów pozyskanych w warunkach SC-CO₂, w preparatach do mycia, tj. działanie zapachowe, nawilżające, regenerujące i odżywcze dla skóry oraz włosów, zoptymalizowano stężenia emolientów w końcowych formułacjach. Wspomniane surowce dodawano do receptur w ilości 0,5–5,0% masowych. Badano wpływ dodatku oleju na właściwości fizykochemiczne i użytkowe opracowanych produktów [1R - 3R].

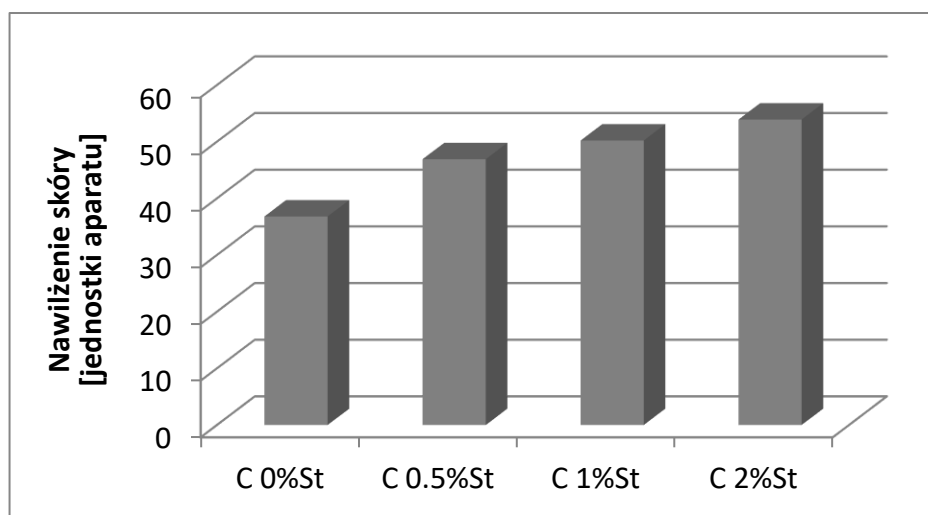
Wyzwaniem technologicznym okazało się wprowadzenie do hydrofilowych formułacji bazowych, jakimi są preparaty do mycia, hydrofobowych ekstraktów roślinnych. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów, opracowano parametry technologiczne pozwalające uzyskać stabilne produkty w formie mikroemulsji. W pierwszym etapie oleje (ekstrakty SC-CO₂) mieszano z surfaktantami do uzyskania homogenicznych mieszanin, a następnie łączono z pozostałymi składnikami kompozycji, tj. wodą, regulatorami konsystencji, humektantami i regulatorami kwasowości. Dla otrzymanych produktów, przeprowadzono badania stanowiące wyznaczniki jakości charakterystyczne dla preparatów do mycia. Wykonano standardowo pomiary: wartości pH (pH metr firmy MetlerToledo), właściwości pianotwórczych (objętość i stabilność piany – metoda Ross-Miles'a), zdolności myjących (normowa ocena zdolności emulgowania tłuszczu), napięcia powierzchniowego (stosując tensjometr STA-1, Sinterface Technologies), lepkości (reometr rotacyjny Brookfield, model R/S plus), czystości mikrobiologicznej (test Mikrocount® Combi firmy Schülke) oraz gęstości (metodą hydrostatyczną), zbadano ponadto mętność (spektrofotometr UV-vis, λ=860 nm) i roztwarzalność preparatu w wodzie. Dodatkowo, w oparciu o test probantów, oceniano właściwości organoleptyczne produktów, a dla wybranych formułacji przeprowadzono badania aparaturowe, potwierdzające efektywność działania na skórę. Do badań zastosowano analizator skóry (AramoTS), pozwalający ocenić stan skóry, (m.in. stopień nawilżenia) przed i po zastosowaniu kosmetyków. Produkty wytypowane do badań na probantach poddano wstępnie ocenie na potencjał drażniący, stosując Zein Protein Test [44].

Wyniki badań fizykochemicznych wykazały, że otrzymane produkty charakteryzują się dobrymi właściwościami użytkowymi. Uzyskano produkty o jednorodnej konsystencji, o pH odpowiadającym fizjologicznemu pH skóry (w granicach 5,5–6,5), stabilne w czasie przechowywania, o zabarwieniu zależnym od rodzaju i stężenia zastosowanego ekstraktu i charakterystycznym, pochodzącym od ekstraktu zapachu. Należy podkreślić, że dodatek do preparatów do mycia ekstraktów pozyskanych w warunkach nadkrytycznego CO₂, (w badanym przedziale stężeń), nie zmienił znacząco właściwości fizykochemicznych i użytkowych kosmetyków. Produkty zawierające oleje wykazywały zbliżone właściwości myjące i pianotwórcze do formułacji bazowych. W sześciostopniowej skali, w ocenie właściwości myjących, wszystkie produkty otrzymały oceny 5 lub 6 punktów. Co istotne w przypadku produktów do kąpieli, badane kosmetyki charakteryzowały się dużą stabilnością piany, w granicach 92–99%. Dodatek ekstraktów powodował nieznaczny wzrost napięcia powierzchniowego o około 0,1 do 3 mNm w stosunku do receptur bazowych. Zasadniczo wartości napięcia powierzchniowego 1% roztworów kosmetyków mieściły się w przedziale 23–35 mNm, w zależności od rodzaju i stężenia zastosowanych surfaktantów [1R–3R]. Bardziej wyraźne różnice pomiędzy produktami bazowymi (bez ekstraktów) i zawierającymi ekstrakty obserwowano jedynie w przypadku lepkości preparatów. Dodatek ekstraktów z nasion owoców jagodowych powodował zmniejszenie lepkości wraz ze wzrostem zawartości olejów (Rys. 1) [1R].



Rys. 1. Wpływ dodatku SC-CO₂ oleju z nasion truskawki na lepkość kosmetyków (reometr rotacyjny Brookfield R/S Plus, układ pomiarowy stożek/płytką, T= 25°C) [1R]

Przeprowadzone badania potwierdziły pozytywny wpływ zastosowania olejów z nasion truskawki i czarnej porzeczki (ekstraktów pozyskanych w warunkach nadkrytycznych CO₂) jako składników kompozycji do mycia [1R - 3R]. Zaledwie 0,5% dodatek olejów wystarczył, aby znacznie ograniczyć odtłuszczające działania siarczanu laurylosodowego. Testy aparaturowe potwierdziły, że skóra po myciu kosmetykami z dodatkiem olejów była gładka i bardziej nawilżona. Na rysunku 2 przedstawiono wpływ zawartości oleju z nasion truskawki, w recepturze kosmetyków do mycia, na nawilżenie skóry probantów po umyciu kosmetykiem nie zawierającym oleju (C0%St) i produktami zawierającymi różne stężenia oleju, od 0,5 % (C0,5%St) do 2% (C2%St) [1R].



Rys. 2. Wpływ dodatku SC-CO₂ oleju z nasion truskawki (0–2,0%) na stopień nawilżenia skóry [4R]

Testy mikrobiologiczne potwierdziły czystość badanych produktów, a test z proteiną kukurydzy (Zeina) – łagodne działanie na skórę opracowanych produktów do mycia.

Reasumując, otrzymane wyniki badań wykazały, że zastosowanie w preparatach do mycia, opartych o naturalne surfaktanty ekstraktów z nasion owoców jagodowych, pozwoliło otrzymać skuteczne produkty, wykazujące dodatkowo właściwości pielęgnujące i odżywcze.

Pozyskane w warunkach nadkrytycznych CO₂ ekstrakty z nasion truskawki, czarnej porzeczki czy jeżyny stanowią interesującą propozycję naturalnych surowców o wielofunkcyjnym działaniu, które mogą znaleźć zastosowanie jako dodatek do naturalnych kosmetyków do mycia.

4.3.3.2 EKSTRAKTY Z NASION OWOCÓW JAGODOWYCH POZYSKANE W WARUNKACH NADKRYTYCZNEGO CO₂ JAKO SKŁADNIKI AKTYWNE W PREPARATACH EMULSYJNYCH

Opisany w poprzednim paragrafie, olej z nasion czarnej porzeczki pozyskany na drodze ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych CO₂ zastosowałam również jako składnik emulsji kosmetycznych, zarówno olej w wodzie (O/W), jak i woda w oleju (W/O). Preparaty oprócz oleju z nasion czarnej porzeczki zawierały w swoim składzie ekstrakt z kwiatostanów czarnego bzu (*Sambucus nigra*) [9R, 10R]. Kwiaty czarnego bzu stanowią bogate źródło związków z grupy di- oraz triterpenów, polifenoli, flawonoidów, garbników oraz olejku eterycznego, dzięki zawartości tych substancji wykazują działanie antyutleniające, bakteriobójcze oraz wirusobójcze i odgrywają ogromną rolę w procesie regeneracji uszkodzonych tkanek [4, 45].

Opracowane formułacje w zależności od zawartości substancji aktywnych, mogą znaleźć zastosowanie jako produkty o właściwościach pielęgnacyjnych lub leczniczych. Odpowiednio preparaty z dużą zawartością substancji czynnych (ekstraktu z kwiatów czarnego bzu i ekstraktów olejowych pozyskanych w warunkach nadkrytycznych CO₂) mogą znaleźć zastosowanie, jako produkty przyspieszające gojenie się ran, odleżyn, o działaniu przeciwzapalnym, skutecznie regenerujące komórki naskórka. Zmniejszenie ilości substancji aktywnych pozwoli uzyskać kosmetyki pielęgnacyjne o działaniu nawilżającym, wzmacniającym barierę naskórkową, działające regenerująco na skórę, wygładzające zmarszczki, a także łagodzących stany zapalne skóry [9R-10R]. Przeprowadzone zgodnie z wymaganiami stawianymi preparatom kosmetycznym [46] badania: fizykochemiczne, mikrobiologiczne oraz dermatologiczne wykazały, że opracowane produkty są bezpieczne w stosowaniu, nie powodują podrażnień i odczynu alergicznego podczas stosowania. Ponadto

badania aparaturowe z udziałem grupy probantów potwierdziły działanie nawilżające i wygładzające opracowanych preparatów.

4.3.3.3 NANOSTRUKTURALNE NOŚNIKI LIPIDOWE (NLC) JAKO FORMA FIZYKOCHEMICZNA ZWIĘKSZAJĄCA STABILNOŚĆ FIZYKOCHEMICZNA EKSTRAKTÓW SC-CO₂ Z NASION CZARNEJ PORZECZKI I TRUSKAWKI

Oleje z nasion owoców jagodowych pozyskane w warunkach SC-CO₂, ze względu na znaczną zawartość triglicerydów kwasów tłuszczowych wielonienasyconych, szczególnie omega-3 i omega-6, oraz zawartość innych cennych substancji aktywnych mogą znaleźć również zastosowanie jako dodatki do żywności czy nutriceutyki. Metoda produkcji, jaką jest ekstrakcja w warunkach nadkrytycznych ditlenku węgla (bezpiecznym, nietoksycznym, ekologicznym rozpuszczalnikiem) pozwala zachować właściwości związków aktywnych oleju [7]. Niemniej jednak obecność NNKT powoduje, że surowce te w trakcie przechowywania są podatne na procesy utleniania zachodzące pod wpływem czynników zewnętrznych (tlenu z powietrza czy światła słonecznego), co ogranicza okres ich trwałości. Zwiększenie stabilności świeżo otrzymanych olejów, można uzyskać m.in. poprzez ograniczenie lub wyeliminowanie ich kontaktu z tlenem, światłem oraz jonami metali wielowartościowych (miedzi, żelaza) lub też przez wzbogacenie olejów dodatkiem antyutleniaczy (inhibitorów utleniania). Skutecznie działają tu przeciwutleniacze syntetyczne, aczkolwiek ze względu na zagrożenie dla zdrowia kładziony jest duży nacisk, aby ograniczyć ich stosowanie [40, 47].

W ostatnich latach coraz bardziej popularną formę nośnika dla wrażliwych na warunki zewnętrzne substancji aktywnych, zarówno w produktach farmaceutycznych, kosmetycznych, a także w suplementach diety, stanowią nanocząstki lipidowe [48, 49]. SLN (stałe nanocząstki lipidowe) i NLC (nanostukturalne nośniki lipidowe) stosowano z powodzeniem do kapsułkowania takich substancji aktywnych jak koenzym Q10 [50], tokoferol [51], retinol [52] czy palmitynian askorbylu [53].

Z fizykochemicznego punktu widzenia nanocząstki lipidowe są dyspersjami ze stałym rdzeniem lipidowym, przy czym może to być pojedynczy lipid bądź mieszanina lipidów (glicerydy, kwasy tłuszczowe, woski, steroidy) [31]. Nośniki te składają się z fazy tłuszczowej (od 0,1 do 30%) zdyspergowanej w roztworze wodnym z dodatkiem surfaktantu (od 0,5 do 5%). Rozmiar nanocząstek lipidowych zazwyczaj mieści się w granicach od 40 do 1000 nm [54]. Inkorporowanie substancji bioaktywnych, jak NNKT, do nanocząstek lipidowych chroni je przed chemiczną degradacją, a dodatkowo zapewnia szereg innych korzyści jak: kontrolowane uwalnianie, zwiększoną biodostępność, stabilność [32, 55].

W kolejnym etapie badań, dotyczących zastosowania ekstraktów z nasion owoców jagodowych, otrzymanych w wyniku ekstrakcji nadkrytycznym CO₂, jako wielofunkcyjnych składników aktywnych produktów kosmetycznych podjęto próbę opracowania formułacji, które zapewniłyby stabilność chemiczną olejów, ograniczając ich utlenianie pod wpływem czynników atmosferycznych. W oparciu o wcześniejsze doświadczenia Zespołu, którym kieruję [32], w otrzymywaniu, badaniu właściwość fizykochemicznych i zastosowaniu NLC podjęta została próba zastosowania nanocząstek lipidowych jako alternatywnej formy ochrony olejów z nasion czarnej porzeczki i truskawki. Opracowane formułacje składały się z fazy tłuszczowej zawierającej: 1–5% wagowych w/w olejów oraz 5–15% wag. modyfikowanego wosku pszczelego, zdyspergowanej w roztworze wodnym niejonowego surfaktantu z grupy alkilopoliglukozydów. Stężenie emulgatora mieściło się w przedziale 2 do 5% [12R, 13R]. Nanocząstki lipidowe otrzymano dwiema metodami. Zastosowano metodę homogenizacji wysokociśnieniowej (HPH) oraz utradźwięki. W obu przypadkach zasadniczy etap homogenizacji poprzedzony był etapem przygotowanej wstępnie pre-emulsji, którą w kolejnym etapie poddawano zasadniczemu procesowi homogenizacji [56].

Średni rozmiar i rozkład wielkości cząstek badano, stosując technikę dynamicznego rozpraszania światła (DLS), stabilność otrzymanych formułacji określano makroskopowo oraz za pomocą analizatora skoncentrowanych dyspersji cieczowych Turbiscan Lab® Expert (urządzenie umożliwia śledzenie kinetyki zmiany wielkości cząstek spowodowane koalescencją lub flokulacją). W celu oceny stabilności chemicznej olejów zainkorporowanych w NLC przeprowadzono test oksydacyjny. Dla czystych i zainkorporowanych w NLC olejów, poddanych procesowi przyspieszonego starzenia [56], wykonano pomiary wartości liczby nadtlenkowej (POV) [57]. Oznaczenia wykonano dla świeżych próbek oraz po 7 tygodniach stażowania. W tabeli 2 zamieszczono wyniki pomiarów.

Tabela 2. Wartości liczby nadtlenkowej (POV) dla czystych olejów z nasion truskawki (ST) i Czarnej porzeczki (BC) oraz dla zainkorporowanych w nanocząstkach lipidowych NLC/ST (nanocząstki zawierające olej z nasion truskawki), NLC/ BC (nanocząstki zawierające olej z nasion czarnej porzeczki) [12R, 13R]

Formulacja	Wartości liczby nadtlenkowej (POV) [mmol O ₂ /kg]	
	Czas stażowania	
	1 dzień	7 tygodni
NLC/ST	12,15	13,25
ST	34,51	55,19
NLC/ BC	9,99	11,6
BC	30,7	68,7

Porównując dane zamieszczone w tabeli 2 widać, że zastosowanie NLC w znacznym stopniu ograniczyło utlenianie olejów. Otrzymane wyniki potwierdziły skuteczność nanostrukturalnych nośników lipidowych jako formy ochrony bogatych w NNKT olejów.

Bardzo ważnym dla mnie założeniem podczas wykonywania pracy naukowej było łączenie tematyki podjętych badań z możliwością ich aplikacji w przemyśle, dlatego wyniki prowadzonych badań są przedmiotem patentu i zgłoszenia patentowego [12R, 13R]. Opracowana czysta i proekologiczna technologia otrzymywania formułacji nanostrukturalnych nośników lipidowych zawierających oleje z nasion truskawek i czarnej porzeczki pozyskane w warunkach SC-CO₂ znalazła zainteresowanie wśród producentów kosmetyków. Wyniki prowadzonych prac, postrzegane jako nowoczesne działanie rozwojowe, niezbędna w podnoszeniu poziomu innowacyjności małych i średnich firm, zostały skomercjalizowane w formie licencji udzielonych przez Politechnikę Krakowską.

4.3.4 WPŁYW FORMY FIZYKOCHEMICZNEJ (PODŁOŻA) NA EFEKTYWNOŚĆ DZIAŁANIA KOSMETYKU

Jak już wspomniano we wstępie, oprócz wysokiej jakości surowców jednym z istotniejszych warunków uzyskania optymalnej skuteczności kosmetyku jest opracowanie formułacji, która pozwoli na dostarczanie do skóry substancji aktywnych, zawartych w kosmetyku.

Podstawową i najbardziej rozpowszechnioną formą wyrobów kosmetycznych są emulsje. Stanowią homogeniczny układ dyspersyjny składający się z wielu niemieszających się substancji, takich jak: węglowodory, tłuszcze, woski, substancje zapachowe oraz woda i substancje hydrofilowe. Emulsje skutecznie wspomagają utrzymanie równowagi wodno-lipidowej w skórze, a dodatkowo wykazują zdolność transportu substancji aktywnych, zarówno polarnych, jak i niepolarnych, w głębsze warstwy skóry, co podnosi efektywność działania kosmetyków.

W monografii *Cosmetic emulsions* [8R] omówiłam najważniejsze zagadnienia dotyczące emulsji jako formy kosmetyków. Przedstawiłam aspekty związane z właściwym projektowaniem składu,

doborem surowców, wymaganiami dotyczącymi jakości i bezpieczeństwa produktów kosmetycznych oraz procedurami obowiązującymi przy wprowadzaniu produktów kosmetyczny na rynek.

Praca podzielona jest na kilka rozdziałów, zasadniczą część poprzedza rozdział 2, w którym przedstawiono fizykochemiczne podstawy dotyczące otrzymywania i stabilizacji układów emulsyjnych, będące podbudową do dalszych części opracowania. W kolejnych rozdziałach czytelnik, zostaje wprowadzony w aspekty surowcowo-technologiczne, istotne dla zrozumienia czynników wpływających na efektywność działania preparatów emulsyjnych. W tej części scharakteryzowałam podstawowe grupy surowców stosowanych w emulsjach kosmetycznych: emulgatory, emolienty oraz substancje hydrofilowe o działaniu nawilżającym. Dalej omówiłam substancje pomocnicze odpowiedzialne za stabilność chemiczną i mikrobiologiczną emulsji oraz ich właściwości organoleptyczne, czyli antyutleniacze, substancje konserwujące, regulatory konsystencji i kwasowości. W rozdziale 5 przedstawiłam różne sposoby klasyfikacji emulsji kosmetycznych oraz omówiłam właściwości, działanie oraz przykładowe receptury (wraz z metodyką wykonania) wybranych grup produktów. Przedstawiłam wybrane receptury uniwersalnych baz emulsyjnych, kosmetyków oczyszczających, nawilżających, ochronnych (ze szczególnym uwzględnieniem środków promieniochronnych) oraz kosmetyków anti-age. W rozdziale poświęconym kosmetykom przeciwstarzeniowym uwagę zwróciłam na szczególną rolę surowców pochodzenia naturalnego: surowców roślinnych i otrzymywanych w procesach biotechnologicznych. Zaprezentowałam zarówno powszechnie stosowane surowce, jak i będące efektem prac badawczych, innowacyjne rozwiązania, dopiero pojawiające się na rynku, takie jak ekstrakty roślinne pozyskane w warunkach nadkrytycznych CO₂, ekstrakty z roślinnych komórek macierzystych czy funkcjonalne peptydy.

Reasumując, przedstawiona monografia stanowi kompendium wiedzy dotyczącej produktów kosmetycznych w formie fizykochemicznej jaką jest emulsja.

4.3.4.1. WPŁYW STOPNIA ZDYSPERGOWANIA FAZY WEWNĘTRZNEJ EMULSJI NA EFEKTYWNOŚĆ DZIAŁANIA KOSMETYKÓW

W przypadku układów emulsyjnych nie bez znaczenia jest zarówno typ emulsji, rodzaj zastosowanych emolientów, rodzaj zastosowanego emulgatora czy ko-emulgatora, a także obecność surowców wspomagających transport przeczaskówkowy.

Dobrze zaprojektowane podłoże (nośnik substancji aktywnej) stanowi podstawę skutecznie działającego preparatu kosmetycznego. Większość opisanych w literaturze badań przeprowadzana jest pod kątem optymalizacji składu nośników, w celu zwiększenia przenikalności składników aktywnych przez skórę [17–19]. Ponadto wpływ wielkości kropli fazy zdyspergowanej emulsji na szybkość dostarczania składników aktywnych przez skórę jest przedmiotem wielu publikacji i nadal stanowi źródło kontrowersji. Większość autorów uważa, że wielkość kropli fazy wewnętrznej wpływa na dostarczanie składników aktywnych [19, 58–61], jednak można znaleźć wyniki badań wskazujące na brak takiej zależności [62, 63].

W celu lepszego zrozumienia zależności przenikania substancji aktywnej przez skórę od stopnia rozdrobnienia fazy zdyspergowanej emulsji, opracowano receptury makro- i nanoemulsji, zawierające 0,075% forskoliny [4R, 6R]. Forskolina jest diterpenem ekstrahowanym z korzenia pokrzywy indyjskiej. Ponieważ wykazuje wpływ na wzrost stężenia cyklicznego AMP (cAMP) w komórkach, charakteryzuje się szerokim spektrum aktywności biologicznej [64–66]. W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się działaniu promieniochronnemu i przeciwnowotworowemu tego diterpenu. Z doniesień literaturowych wynika, że forskolina stymuluje produkcję melanocytów

w skórze do wytwarzania pigmentu chroniącego przed promieniowaniem UV i jego skutkami ubocznymi, m.in. rakiem skóry [67–71].

Testy przenikania forskoliny z emulsji O/W (tabela 3) różniących się wielkością kropli fazy olejowej (FK1 o $d=10,01 \mu\text{m}$ i FK2 o $d=0,37 \mu\text{m}$) oraz z nanoemulsji (tabela 4), przeprowadzono w badaniach *in vitro*, stosując jako membranę ludzką skórę, pochodzącą z zabiegów chirurgicznych [4R, 6R].

Tabela 3. Skład makroemulsji (FK1, FK2) [4R]

Nazwa składnika (INCI)	% mas
Caprylic/Capric Triglyceride (MCT)	34
Isohexadecane	
Steareth-2	4
C ₁₃ -C ₁₅ Pareth-7	
Water	do 100
Forskolin	0.075

Do otrzymania nanoemulsji zastosowano metodę składnikowej inwersji faz (*Phase Inversion Composition*, PIC), należąca do niskoenergetycznych metod emulsyfikacji [5R]. Proces polegał na stopniowym dodawaniu wody do mieszaniny oleju (triglicerydy kwasów kaprynowego i kaprylowego) i surfaktantu. Jako surfaktanty zastosowano niejonowe związki powierzchniowo-czynne z grupy oksyetylenowanych estrów sorbitanu i kwasów tłuszczowych. Nanoformulacje otrzymano w temperaturze pokojowej. Analizę rozmiaru cząstek fazy zdyspergowanej (d), współczynnik polidispersyjności (PDI) oraz badania stabilności przeprowadzono metodą dynamicznego rozproszenia światła (DLS), za pomocą aparatu Nano Zetasizer ZS [6R].

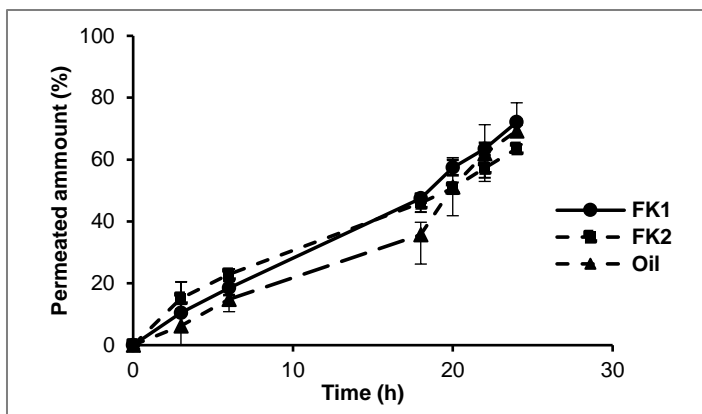
Tabela 4. Charakterystyka badanych nanoemulsji [6R]

Emulsja	O/S Ratio (20/80)	d (nm) \pm S.D. (n=3)	PDI
NE1F	Polysorbate 80/MCT	118 \pm 10	0,370
NE2F	Polysorbate 40/MCT	111 \pm 15	0,338

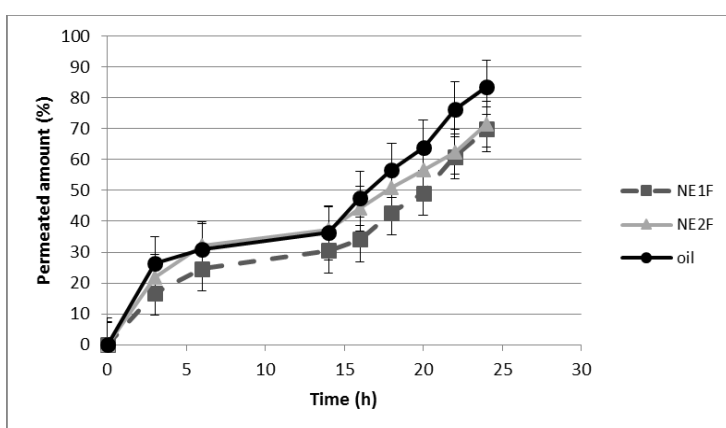
MCT – średniołańcuchowe triglicerydy, Caprylic/Capric Triglyceride
 Polysorbate 80 – oksyetylenowany monooleinian sorbitanu (HLB=15)
 Polysorbate 40 – oksyetylenowany monopalmitynian sorbitanu (HLB=15,6)
 Rozmiar kropli (d) i współczynniki polidispersyjności (PDI) otrzymane na podstawie pomiarów DLS

Badania przenikania forskoliny prowadzono w termostatowanych komorach dyfuzyjnych Frantza z zastosowaniem systemu MicroettePlus®. Stężenie diterpenu w roztworze receptora (mieszanina buforu fosforanowego, o pH=7,4 i EtOH) analizowano za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), stosując detektor UV.

Uzyskane wyniki wykazały, że rozmiar kropli fazy zdyspergowanej w emulsji nie wpływa znacząco na penetrację składnika aktywnego do skóry. Jak możemy zauważyć (Rys. 3), ilość substancji aktywnej, która przeniknęła przez skórę w ciągu 24h z badanych formulacji była zbliżona ($72,10 \pm 0,78\%$, $63,54 \pm 1,33\%$ and $69,32 \pm 9,04\%$, odpowiednio z FK1, FK2 i oleju) i porównywalna z ilością, która przeniknęła z nanoemulsji ($69,92 \pm 8,89\%$, $71,49 \pm 7,11\%$ odpowiednio z NE1F, NE2F), (Rys. 4).



Rys. 3. Wpływ bazy kosmetycznej na przenikanie forskoliny przez skórę, z klasycznej emulsji (FK1, FK2) oraz z oleju [4R].



Rys. 4. Wpływ bazy kosmetycznej na przenikanie forskoliny przez skórę z nanoemulsji stabilizowanych różnymi emulgatorami (NEF1, NEF2) [6R].

Na podstawie wyników uzyskanych z badania przenikalności i w oparciu o pierwsze prawo dyfuzji Fick'a opisano transport forskoliny z badanych formułacji przez skórę, wyznaczając parametry istotne dla efektywnego recepturowania (m.in. przepływ składnika aktywnego przez jednostkę powierzchni w jednostce czasu (J) współczynnik podziału forskoliny między nośnikiem a *stratum corneum* (K), oraz współczynnik przenikania (rozprzestrzeniania) forskoliny w warstwie rogowej naskórka (k_p). Do obliczeń zastosowano analizę statystyczną z wykorzystaniem pakietu statystycznego *STATISTICA 8*, w oparciu o analizę wariancji ANOVA (*Analysis Of Variance*). Na poziomie istotności $p=0,05$ można stwierdzić, że nie ma istotnie statystycznie różnic. Otrzymane dla forskoliny wyniki zamieszczono w tabelach 5 i 6.

Tabela 5. Parametry opisujące transport forskoliny z emulsji przez skórę (n=4) [4R]

Emulsja	J_{ss} ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)	T_L (h)	$K_p\cdot 10^3$ ($\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$)	P_1 (cm)	$P_2\cdot 10^2$ (h^{-1})
FK1	5.99 (5.63-6.08)	6.04 (5.13-6.54)	7.98 (7.51-8.11)	0.291 (0.231-0.314)	2.76 (2.50-3.20)
FK2	4.36 (3.86-4.89)	3.92 (3.2-4.63)	5.82 (5.15-6.52)	0.146 (0.111-0.181)	4.40 (3.60-5.20)
Oil	8.45 ^b (6.99-9.39)	11.36 ^{a,b} (10.65-11.64)	11.26 ^b (9.30-12.51)	0.72 ^b (0.63-0.87)	1.47 ^{a,b} (1.43-1.56)

a, b $p<0.05$ odpowiednio dla FK1, FK2

Tabela 6. Parametry opisujące transport forskoliny z nanoemulsji przez skórę (n=4) [6R]

Formulacja	J_{ss} ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)	T_L (h)	$K_p\cdot 10^3$ ($\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$)	P_1 (cm)	$P_2\cdot 10^2$ (h^{-1})
NE1F	6.91 ± 0.75	8.82 ± 0.90	9.21 ± 1.00	0.49 ± 0.10	1.90 ± 0.002
NE2F	$4.92^* \pm 0.44$	$2.75^* \pm 0.36$	$6.55^* \pm 0.59$	$0.108^* \pm 0.019$	$6.13^* \pm 0.80$

$p < 0.05$ dla NE1F

Parametry P_1 , P_2 , zgodnie z równaniem 1, określają współczynnik przenikania substancji aktywnej.

$$k_p = P_1 + P_2 \quad (1)$$

gdzie: $P_1 = K_{\text{octanol/woda}}/L$ a $P_2 = D/L$

k_p – współczynnik przenikania, określa prędkość z jaką substancja chemiczna przenika i rozprzestrzenia się w warstwie rogowej naskórka,

$K_{\text{octanol/woda}}$ – współczynnik podziału oktanol/ woda ($\log K$ jest miara lipofilowości substancji),

L - długość drogi dyfuzji cząsteczki penetrującej

D - współczynnik dyfuzji cząsteczki penetrującej

Wyniki przeprowadzonych badań przenikania przez skórę wykazały, że wprowadzana do emulsji forskolina penetruje w wysokim stopniu skórę ludzką (do $72,10 \pm 0,78\%$). Nie stwierdzono jednak korelacji między wielkością kropli fazy wewnętrznej emulsji a przenikaniem forskoliny przez skórę. Wyniki te są zgodne z wynikami uzyskanymi dla tetrakainy w pracy Izquierdo i współautorów [63]. Brak znaczących różnic w przenikaniu forskoliny z emulsji różniących się rozmiarem kropli fazy wewnętrznej można tłumaczyć tym, że forskolina jest substancją lipofilową ($\log K_{\text{octanol/water}} = 3,11$) więc charakteryzuje się znaczącym powinowactwem do fazy olejowej oraz/lub jej absorpcją na granicy faz olej/woda [72]. Otrzymane wyniki potwierdzają pogląd, że przenikanie przez skórę jest procesem przede wszystkim kontrolowany przez dyfuzję.

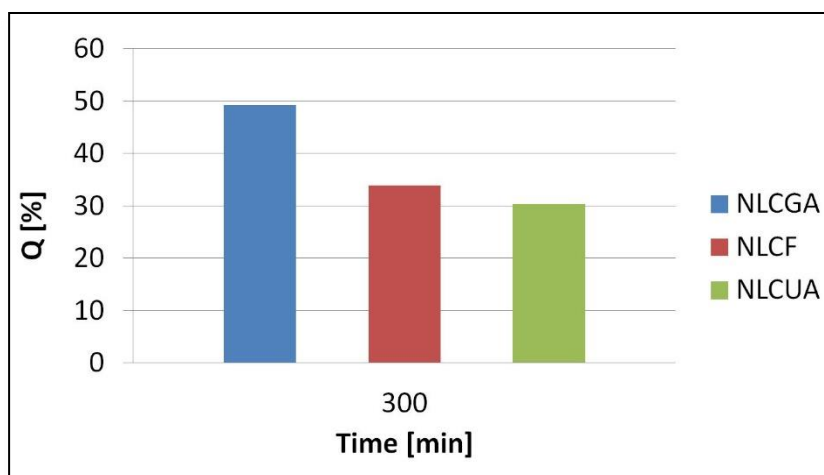
4.3.4.2. WPŁYW WŁAŚCIWOŚCI SUBSTANCJI AKTYWNEJ NA JEJ PRZENIKANIE PRZEZ SKÓRĘ

Ponieważ wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły, że czynnikiem w istotny sposób determinującym przenikanie substancji przez *stratum corneum* jest lipofilowość cząsteczki, ponieważ wpływa na współczynnik podziału baza/ warstwa rogowa naskórka, głównym założeniem kolejnego etapu badań była ocena wpływu masy cząsteczkowej wybranych związków na uwalnianie z nośnika [7R]. W badaniach, oprócz forskoliny, zastosowano związki z grupy mono- i triterpenów. Przedstawicielem monoterpenów był kwas geraniowy, ponieważ wykazuje właściwości przeciwgrzybiczych [73], a także jest inhibitorem tyrozynazy może więc znaleźć zastosowanie jako substancja depigmentacyjna i wybielająca [74]. Natomiast przedstawicielem związków z grupy triterpenów był kwas ursolowy, charakteryzujący się szerokim spektrum aktywności. Wykazujący działanie antyoksydacyjne [75], przeciwzapalnych [76] oraz hepatoprotekcyjne i przeciwnowotworowe [77,78].

Jako innowacyjną formę dostarczania substancji aktywnych do skóry zastosowano NLC. Jak wspomniano już wcześniej nanocząstki lipidowe stosowane są jako forma ochronny substancji wrażliwych na destrukcyjne działanie czynników zewnętrznych. Przede wszystkim jednak znajdują zastosowanie jako transdermalne systemy nośników dla słabo rozpuszczalnych, hydrofobowych związków aktywnych. Co warto podkreślić, ich zastosowanie pozwala na kontrolowane uwalnianie substancji aktywnych i ograniczenie ogólnoustrojowych efektów ubocznych [31, 32, 54].

NLC zawierające związki terpenowe, (kwas geraniowy, forskolinę i kwas ursolowy), w ilości 0,075%, otrzymano metodą homogenizacji ultradźwiękowej, stosując receptury wytypowane w wyniku wcześniejszych badań [31]. W składzie formulacji jako ciekły lipid zastosowano triglicerydy kwasów kaprynowego i kaprylowego a jako stały - modyfikowany wosk pszczelej, (w stosunku 3:7). Układ stabilizowano poprzez dodatek 4% glukozydu decylowego. Średni rozmiar cząstek zawierających terpeny wynosił 101, 106 i 98 nm, odpowiednio dla NLC z kwasem geraniowym, forskoliną i kwasem ursolowym (analiza DLS). O dużej stabilności otrzymanych układów świadczyły, wartości potencjału zeta około -30 mV. Badania uwalniania substancji aktywnych z NLC przeprowadzono metodą mikrodializy [79], stosując membrany dializacyjne z regenerowanej celulozy (Spectra/Por® Dialysis Membrane). Roztwór akceptorowy stanowiła mieszanina buforu fosforanowego (PBS) i etanolu. Stężenie terpenów w roztworze akceptorowym analizowano stosując HPLC [7R].

Otrzymane profile uwalniania charakteryzował przebieg dwufazowy [7R]. Większość substancji aktywnej zainkorporowanej w NLC, zostało uwolnione w ciągu pierwszych 5 godzin, odpowiednio 49,3% - kwasu geraniowego, 33,9 % - forskoliny i 30,3% - kwasu ursolowego (rys. 5). W czasie kolejnych kilkunastu godzin proces uwalniania miał wolniejszy, stopniowy charakter. Stężenie terpenów w roztworze akceptorowym wzrosło jeszcze o kilka procent i po czasie 24 godzin wynosiło odpowiednio 56,8% dla kwasu geraniowego, 55,6% dla forskoliny i 61,7% dla kwas ursolowy [7R].



Rys. 5. Wpływ masy cząsteczkowej substancji (GA – kwas geraniowy, F – forskolina and UA – kwas ursolowy) na uwalnianie z NLC

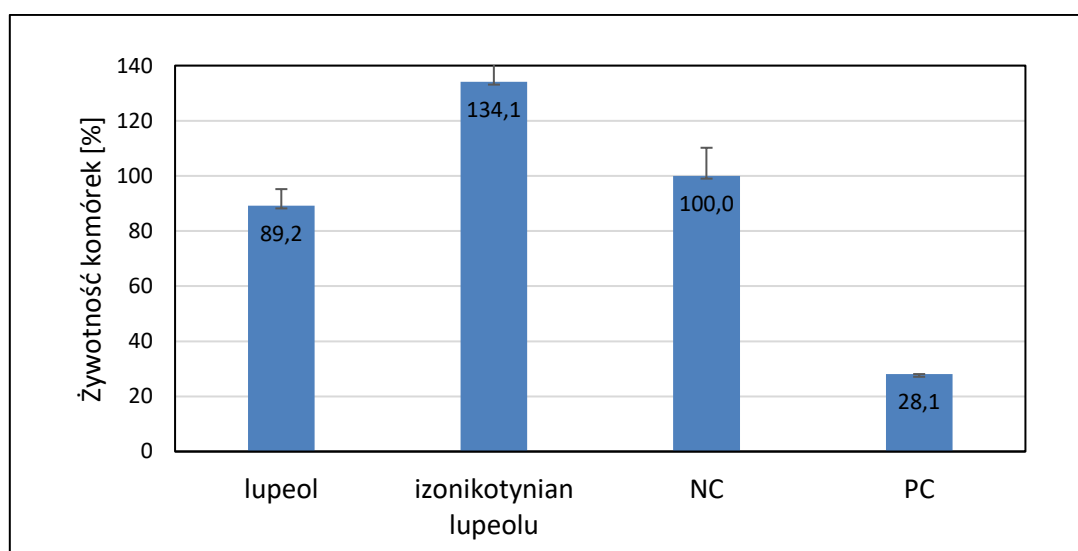
Przeprowadzone badania potwierdziły, że oprócz lipofilowości dodatkowo struktura chemiczna związków wpływa na proces ich uwalnianie z nośnika. Wskazały również na duży potencjał nanocząstek lipidowych, nie tylko jako formy ochronny substancji wrażliwych na działanie czynników zewnętrznych, ale również jako systemów kontrolowanego dostarczania związków aktywnych, zarówno do natychmiastowego jak i przedłużonego w czasie działania.

4.3.4.3. WPŁYW MODYFIKACJI STRUKTURY SUBSTANCJI NA JEJ AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNĄ

Ponieważ prowadzone badania jednoznacznie wykazały, że właściwości substancji czynnych wpływają na jej przenikanie z nośnika, w poszukiwaniu surowców o optymalnej aktywności biologicznej i wysokiej skuteczności, wraz z Zespołem, podjęłam próbę modyfikacji struktury lupeolu, alkoholu z grupy triterpenów, substancji pochodzenia naturalnego pozyskiwanej z kory brzozy, znanej z szerokiego spektrum aktywności biologicznej.

W wyniku modyfikacji struktury lupeolu, otrzymano izonikotynian lupeolu, nie opisany dotychczas w literaturze związek biologicznie aktywny [11R]. Ocena dermatologiczna zsyntezowanego estru, potwierdziła brak cytotoksyczności i działania drażniącego na skórę. W badaniach zastosowano metodę EpiDerm™ SIT (EPI-200), bazującą na modelu rekonstruowanego ludzkiego naskórka (RhE). Oznaczenie polegało na nałożeniu odpowiedniej ilości 0,5% roztworu badanego związku na powierzchnię modelu naskórka. Rozpuszczalnik stanowiły triglicerydy kwasów kaprynowego i kaprylowego (Crodamol GTCC). Równocześnie z izonikotynianem, badaniu poddano próbę pozytywną (PC), czyli 5% roztwór soli sodowej siarczanu alkoholu laurylowego oraz próbę ujemną (NC), którą stanowiła czysta baza olejowa Crodamol GTCC. Pomiar potencjału drażniącego wykonano zgodnie z procedurą SOP (ang. Standard Operation Protocol) [78]. Po 42 godzinach inkubacji, za pomocą testu kolorymetrycznego, oceniono żywotność komórek.

Przeprowadzone testy *in vitro* potwierdziły, że modyfikacja struktury cząsteczki pozwala otrzymać skuteczniejszą w działaniu substancję aktywną. Zsyntezowana pochodna lupeolu efektywnie wpływała na regenerację komórek skóry i znacznie przyspieszała proces jej regeneracji. Izonikotynian lupeolu wykazywał aktywność proliferacyjną, o prawie 50% wyższą niż związek wyjściowy [11R]. Zdolność do indukcji proliferacji komórek dla estru mieściła się na poziomie 134,1% podczas gdy w przypadku czystego alkoholu wartość ta wynosiła 89,2% (rys. 6).



Rys. 6. Ocena potencjału drażniącego izonikotynianu lupeolu i lupeolu metodą EpiDerm [11R]

Dodatkowo, otrzymany ester charakteryzowała prawie 20-krotnie wyższą aktywność antyoksydacyjna w porównaniu z lupeolem [11R, 81].

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły również bezpieczeństwo obu surowców, izonikotynian lupeolu, podobnie jak lupeol, nie powodował powstawania odczynu zapalnego komórek naskórka. Zsyntezowana nowa, nieopisana w literaturze substancja, (izonikotynian lupeolu), może więc znaleźć zastosowanie jako potencjalny składnik aktywny preparatów kosmetycznych i farmaceutycznych przeznaczonych dla szerokiej grupy odbiorców, do pielęgnacji, regeneracji i leczenia skóry.

4.4. Najważniejsze osiągnięcia i elementy nowości naukowej

Wśród najważniejszych wyników i osiągnięć przeprowadzonych badań należy wymienić:

1. Opracowanie receptur i technologii otrzymywania nowej generacji, ekologicznych i bezpiecznych w stosowaniu kosmetyków do mycia (szamponów, żeli pod prysznic, płynów do kąpieli) w formie mikroemulsji, z udziałem ekstraktów roślinnych otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂, jako wielofunkcyjnych surowców kosmetycznych, (emolientów i równocześnie źródła substancji aktywnych) [1R -3R].
2. Opracowanie, zgodnie ze standardami COSMOS, receptur i technologii otrzymywania innowacyjnych, naturalnych kosmetyków emulsyjnych do pielęgnacji skóry, o szerokim spektrum działania, z udziałem ekstraktów roślinnych otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂.
 - *Patent nr 224161, M. Tabaszewska, E. Sikora, Preparat kosmetyczny do pielęgnacji skóry, 2016*
 - *Patent nr 224853, Sposób wytwarzania preparatu kosmetycznego zawierającego ekstrakt z kwiatostanów bzu czarnego, M. Tabaszewska, E. Sikora, Ł. Skoczył, 2016*
3. Opracowanie receptury i technologii otrzymywania nanostrukturalnych nośników lipidowych (NLC), nowatorskich produktów zarówno pod względem formy fizykochemicznej jak i efektywności działania. Opracowane NLC stanowią innowacyjną, wielofunkcyjną postać nośnika dla wrażliwych na warunki zewnętrzne substancji aktywnych jakimi są oleje z pestek nasion owoców jagodowych (z nasion truskawki i czarnej porzeczki); wpływają na zwiększenie skuteczności działania, bezpieczeństwo stosowania oraz poprawę właściwości sensorycznych produktów kosmetycznych.
 - *Patent nr 232678, Formulacja nanostrukturalnych nośników lipidowych i sposób jej wytwarzania, E. Lasoń, E. Sikora, J. Ogonowski, decyzja UPRP o udzieleniu patentu z dnia 25.03.2019*
 - *Patent na zgłoszenie nr P.413255, Formulacja nanostrukturalnych nośników lipidowych i sposób jej wytwarzania, E. Lasoń, E. Sikora, J. Ogonowski, decyzja UPRP o udzieleniu patentu z dnia 25.06.2019,*
4. Wykazanie, że przenikanie substancji aktywnych przez skórę jest procesem przede wszystkim kontrolowany przez dyfuzję, a czynnikiem w istotny sposób determinującym przenikanie przez *stratum corneum* są właściwości cząsteczki w tym struktura oraz lipofilowość, która wpływa na współczynnik podziału nośnik/ warstwa rogową naskórka [4R, 6R, 7R].
5. Wykazanie, że struktura substancji aktywnej wpływa na efektywność jej działania. Otrzymanie na bazie modyfikacji struktury lupeolu, nowej substancji, która wykazywała znacząco wyższą aktywność biologiczną, w porównaniu z wyjściowy związek. Opracowanie nowej, ekologicznej ścieżki syntezy estrów lupeolu.
 - *Patent nr 230996, Nowa pochodna alkoholu lupeolu, M. Malinowska, E. Sikora, J. Ogonowski, 2018*
6. Wykazanie, że emulsja, jako forma bazowa preparatów kosmetycznych, bez względu na stopień zdyspergowania fazy wewnętrznej, zapewnia odpowiednią efektywność działania kosmetyków [4R, 6R, 8R].
7. Zorganizowanie, od podstaw, laboratorium badawczego, „Laboratorium Chemii i Technologii Kosmetyków”, w którym znajduje się aparatura do badania właściwości fizykochemicznych i użytkowych produktów kosmetycznych.
8. Opracowanie stanowiska badawczego do badania kinetyki uwalniania substancji aktywnych z różnych nośników, metodą mikrodializacyjną.

4.5. Spis cytowanej literatury (oprócz prac wymienionych w pkt. 4.2.)

- [1]. <https://www.premiumbeautynews.com/en/global-natural-cosmetics-market-is,14598>, dostęp online 18.04.2019.
- [2]. E. Sikora, J. Ogonowski, Ekstrakty roślinne, jako surowce w wybranych produktach kosmetycznych, *Chemical Review* 3–4, 2015, 28–33.
- [3]. J. Zhou, X.L. Sun, S.W. Wang, Micelle-mediated extraction and cloud-point preconcentration of osthole and imperatorin from *Cnidium monnieri* with analysis by high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1200, 2008, 93–99.
- [4]. K. Śliwa, A. Tomaszewicz-Potępa, E. Sikora, J. Ogonowski, Micelle-mediated extraction of elderberry blossom by whey protein and naturally derived surfactants, *Acta Biochim. Pol.* 60, 2013, 803–806.
- [5]. K. Śliwa, E. Sikora, J. Ogonowski, J. Oszmiański, J. Kolniak-Ostek, A micelle mediated extraction as a new method of obtaining the infusion of *Bidens tripartita*, *Acta Biochim. Pol.* 63, 2016, 543–548.
- [6]. K. Śliwa, P. Śliwa, E. Sikora, J. Ogonowski, Application of polyethylene/polypropylene glycol ethers of fatty alcohols for micelle-mediated extraction of *Calendula Anthodium*, *J. Surfact. Deterg.*, 2018, 1–7.
- [7]. E. Rój, A. Dobrzyńska-Inger, D. Kostrzewa, K. Kołodziejczyk, M. Sójka, B. Król, A. Miszczak, J. Markowski, Extraction of berry seed oils with supercritical CO₂, *Przem. Chem.* 12, 2009, 1325–1330.
- [8]. M.S. Lenucci, A. Caccioppola, M. Durante, L. Serrone, R. Leonardo, G. Piro, G. Dalessandro, Optimisation of biological and physical parameters for lycopene supercritical CO₂ extraction from ordinary and high-pigment tomato cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 90, 2010, 1709–1718.
- [9]. E. Rój, Supercritical CO₂ extraction and its application, Polish Foundations of the Opportunities Industrialization Centers "OIC Poland", Lublin 2014.
- [10]. P. Morganti, E. Ruocco, R. Wolf, V. Ruocco, Percutaneous Absorption and Delivery Systems, *Clinics In dermatology*, Elsevier Science Inc., New York 2001.
- [11]. R.R. Meyer (ed.), *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products, Technology, Applications, and Formulations*, William Andrew, Inc. Nowy Jork, 2005.
- [12]. B.W. Barry, Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 14, 2001, 101–114.
- [13]. N. Dayan, Pathways for skin Penetration, *Cosmetic&Toiletries* 6, 2005, 67–76.
- [14]. Y.B. Choy, M.R. Prausnitz, The Rule of Five for Non-Oral Routes of Drug Delivery: Ophthalmic, Inhalation and Transdermal, *Pharm Res* 28(5), 2011, 943–948.
- [15]. M.S. Roberts, S.E. Cross, M.A. Pelett, Skin transport. In: *Dermatological and Transdermal Formulations*, (Walters A.W., ed.), Dekker, New York, 2002.
- [16]. B.E. Vecchia, A.L. Bunge, Evaluating the transdermal permeability of chemicals, In: *Transdermal Drug Delivery* (electronic resource), (Guy R.H. and Hadgraft J. eds.), Dekker, New York, 2003.
- [17]. M. Jaworska, E. Sikora, J. Ogonowski, Czynniki wpływające na penetrację składników aktywnych przez skórę, *Wiadomości Chemiczne* 3/4, 2011, 301–319.
- [18]. M. Malinowska, E. Sikora, J. Ogonowski, Transport przeznaskórkowy aktywnych składników kosmetycznych, *Wiadomości Chemiczne* 67, 2013, 321–344.
- [19]. A. Otto, J. du Plessis, J.W. Wiechers, Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery, *International Journal of Cosmetic Science* 31, 2009, 1–19.

- [20]. Y.S. Rhee, J.G. Choi, E.S. Park, S.C. Chi, Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsions, *International Journal of Pharmaceutics* 228(1–2), 2001, 161–170.
- [21]. Y. Yuan, S. Li, F. Mo, D. Zhong, Investigation of Microemulsion System for Transdermal Delivery of Meloxicam, *International Journal of Pharmaceutics* 321, 2006, 117–123.
- [22]. L.W. Zhang, S.A. Al-Suwayeh, C.F. Hung, C.C. Chen, J.Y. Fang, Oil components modulate the skin delivery of 5-aminolevulinic acid and its ester prodrug from oil-in-water and water-in-oil nanoemulsions, *International Journal of Nanomedicine* 6, 2011, 693–704.
- [23]. A.C. Sintov, L. Shapiro, New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo, *Journal of Controlled Release* 95, 2004, 173–183.
- [24]. G.M. El Maghraby, Transdermal delivery of hydrocortisone from eucalyptus oil microemulsion: effects of cosurfactants, *International Journal of Pharmaceutics* 355, 2008, 285–292.
- [25]. K. Moser, K. Kriwet, A. Naik, Y.N. Kalia, R.H. Guy, Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 52, 2001, 103–112.
- [26]. W.W. Ting, C.D. Vest, R.D. Sontheimer, Review of traditional and novel modalities that enhance the permeability of local therapeutics across the stratum corneum, *International Journal of Dermatology* 43, 2004, 538–547.
- [27]. L. Kang, A.L. Poh, S.K. Fan, P.C. Ho, Y.W. Chan, S.Y. Chan, Reversible effects of permeation enhancers on human skin, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 67, 2007, 149–155.
- [28]. M. Jaworska, E. Sikora, J. Ogonowski, Study of O/W micro- and nano-emulsions based on propylene glycol diester as a vehicle for geranic acid, *Acta Biochimica Polonica* 62, 2015, 229–233.
- [29]. M. Jaworska, E. Sikora, J. Ogonowski, Nanoemulsions. Characteristics and methods for preparation, *Przemysł Chemiczny* 93(7), 2014, 1000–1005.
- [30]. M. Miastkowska, E. Sikora, J. Ogonowski, M. Zielina, A. Łudzik, The kinetic study of isotretinoin release from nanoemulsion, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspect*. 510, 2016, 63–68.
- [31]. E. Lasoń, E. Sikora, J. Ogonowski, Influence of process parameters on properties of Nanostructured Lipid Carriers (NLC) formulation, *Acta Biochimica Polonica* 60(4), 2013, 773–777.
- [32]. E. Lasoń, E. Sikora, M. Miastkowska, P. Socha, J. Ogonowski, Formation of stable NLC delivery systems for alpha lipoic acid: physicochemical characteristics and release study, *Colloids and Surfaces A*. 532, 2017, 57–32.
- [33]. J.M. Wilmott, D. Aust, B.E. Brockway, V. Kulkarni, The delivery systems, In: *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetics Products*, (Rosen M.E eds.), William Andrew Publishing, Norwich, 2005.
- [34]. <https://cosmos-standard.org/>, dostęp online 29.03.2019.
- [35]. E. Sikora, J. Ogonowski, Ekstrakty roślinne jako surowce w wybranych produktach kosmetycznych, *Chemical Review* 3–4, 2015, 28–33.
- [36]. <http://www.cbi.eu/sites/default/files/study/product-factsheet-vegetable-oils-fruit-seed-oils-europe-natural-ingredients-cosmetics-2014.pdf>, dostęp online 04.04.2019.
- [37]. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/rolnictwo-lesnictwo/uprawy-rolne-i-ogrodnicze>, dostęp online 12.09.2016.

- [38]. V. Van Hoed, N. De Clercq, C. Echim, M. Andjelkovic, E. Leber, K. Dewettinck, R. Verhe, Berry seeds: A source of specialty oils with high content of bioactives and nutritional value. *J Food Lipids*. 16, 2009, 33–49.
- [39]. B. Yang, M. Ahotupa, P. Määttä, H. Kallio, Composition and antioxidative activities of supercritical CO₂-extracted oils from seeds and soft parts of northern berries, *Food Res. Inter.* 44, 2011, 2009–2017.
- [40]. M. Pieszka, W. Migdał, R. Gąsior, M. Rudzińska, D. Bederska-Łojewska, M. Pieszka, P. Szczurek, Native Oils from Apple, Blackcurrant, Raspberry, and Strawberry Seeds as a Source of Polyenoic Fatty Acids, Tocochromanols, and Phytosterols: A Health Implication. *J Chem.* 2015, 1-8, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/659541>.
- [41]. J. Milala et al., Changes of bioactive components in berry seed oils during supercritical CO₂ extraction, *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), 2017, DOI: 10.1111/jfpp.13368.
- [42]. P. Michorczyk, J. Ogonowski, Analiza składu chemicznego wybranych olejów pozyskanych w warunkach nadkrytycznego CO₂, *Ekosmtyki*, Wydawnictwo PK, Kraków 2016, ISBN 978-83-7242-878-3.
- [43]. E. Sikora, A. Dyrdał, Oleje z nasion owoców jagodowych jako cenny surowiec kosmetyczny, *Monografia - VI Zielarska Konferencja Kobiet*, 2017, 19-28, ISBN 987-83-7637-465-9.
- [44]. A. Lips et al., Role of surfactant micelle charge in protein denaturation and surfactant induced skin irritation, In: Rhein LD, Schlossman M, O'Lenick, A, et al, (eds.), *Surfactants in Personal Care Products and Decorative Cosmetics*, Boca Raton, FL: CRC Press 2006, 177–187, *Surfactant Science Series* 135, 3rd ed.
- [45]. M. Tabaszewska, D. Najgebauer-Lejko, E. Sikora, Ł. Skoczylas, J. Słupski, D. Wojnar, L. Staruch, Selected antioxidant properties of elderflower extracts, *Laboralim 2015*, Fakulta Chemickej a Potavinarskej Technologie STU, Bratislava 2015, 336–339, ISBN 978-80-89597-23-9.
- [46]. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/>, dostęp online 11.04.2019.
- [47]. H. Salminen, T. Helgason, B. Kristinsson, K. Kristbergsson, J. Weiss, Formation of solid shell nanoparticles with liquid ω-3 fatty acid core, *Food Chem* 141, 2013, 2934–2943.
- [48]. K.K. Sawant, S.S. Dodiya, Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles, *Recent Pat Drug Deliv Formulats* 2, 2008, 120–135.
- [49]. F. Han, S. Li, R. Yin, H.Z. Liu, L. Xu, Effect of surfactant on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: nanostructured lipid carriers, *Colloids Surf A* 315, 2008, 210–216.
- [50]. M. Üner, Preparation, characterization and physico-chemical properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC): Their benefits as colloidal drug carrier systems, *Pharmazie* 61, 2006, 375–386.
- [51]. A. Dingler, R.P. Blum, H. Niehus, R.H. Müller, S. Gohla, Solid lipid nanoparticles (SLN/Lipopearls) – pharmaceutical and cosmetic carrier for the application of vitamin E in dermal products, *J Microencapsul* 16, 1999, 751–767.
- [52]. V. Jennings, S. Gohla, Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN), *J Microencapsul* 18, 2001, 149–158.
- [53]. J. Kristl, B. Volk, M. Gasperlin, M. Sentjurc, P. Jurkovic, Effect of colloidal carriers on ascorbyl palmitate stability, *Eur J Pharm Sci* 19, 2003, 181–189.
- [54]. J. Pardeike, A. Hommoss, R.H. Müller, Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products, *Int. J. Pharm.* 366, 2009, 170–184.

- [55]. E. Lasoń, E. Sikora, M. Miastkowska, E. Escribano, M. Jose Garcia-Celma, C. Solans, M. Lilinas, J. Ogonowski, NLC as a potential carrier system for transdermal delivery of forskolin, *Acta Biochimica Polonica* 65(3), 2018, 437–442.
- [56]. E. Lasoń, E. Sikora, J. Ogonowski, Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers demonstrating the stabilizing effect against peroxidation of strawberry and blackcurrant seed oils, *Agro FOOD Industry Hi Tech* 26(6), 2015, 44–48.
- [57]. PN-EN ISO 3960:2017-03, Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlencowej.
- [58]. D. Paulino, C.A. Ventura, S. Nisticò, G. Puglisi, M. Fresta, Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability, *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 244, 21–31.
- [59]. O. Sonnevile, J.T. Simmonet, F. L'Alloret, Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products, *Advances in Colloid and Interface Science* 108, 2004, 145–149.
- [60]. T. Kotyla, F. Kuo, V. Moolchandani, T. Wilson, R. Nicolosi, Increased bioavailability of a transdermal application of a nano-sized emulsion preparation, *International Journal of Pharmaceutics* 347, 2008, 144–148.
- [61]. J. Frelichowska, M.-A. Bolzinger, J. Pelletier, J.P. Valour, Y. Chevalier, Topical delivery of lipophilic drugs from o/w Pickering emulsions, *International Journal of Pharmaceutics* 371, 2009, 56–63.
- [62]. J. Wiechers, in: K.A. Valters, M.S. Roberts (Eds.), *Dermatological and Cosmeceutical Development, Efficacy and Toxicity, Therapeutically and Novel Approaches*, Informa Healthcare USA, Inc., New York, 2008, Chapter 20.
- [63]. P. Izquierdo, J.W. Wiechers, E. Escribano, M.J. García-Celma, T.F. Tadros, J. Esquena, J.C. Dederen, C. Solans, A Study on the Influence of Emulsion Droplet Size on the Skin Penetration of Tetracaine, *Skin Pharmacology and Physiology* 20, 2007, 263–270.
- [64]. B. Burlando, L. Verotta, L. Cornara, E. Bottini-Massa, *Herbal Principles in Cosmetics: Properties and Mechanisms of Action*, CRS Press Taylor & Francis Group, New York, 2010.
- [65]. C. Ciotonea, C. Cernatescu, Biological active effects of Foskolin extract, *Buletinul Institutului Politehnic DIN IAȘI* 4, 2010, 95–106.
- [66]. C. Kavitha, K. Rajamani, E. Vadivel, *Coleus forskohlii* A comprehensive review on morphology, phytochemistry and pharmacological aspects, *Journal of Medicinal Plants Research* 4, 2010, 278–285.
- [67]. J.A. D'Orazio, T. Nobuhisa, R. Cui, M. Arya, M. Spry, K. Wakamatsu, V. Igras, T. Kunisada, S.R. Granter, E.K. Nishimura, S. Ito, D.E. Fisher, Topical drug rescue strategy and skin protection based on the role of Mc1r in UV-induced tanning, *Nature* 443, 2006, 340–334.
- [68]. M. Spry, J.C. Vanover, T. Scott, O. Abona-Ama, K. Wakamatsu, S. Ito, J.A. D'Orazio, Prolonged treatment of fair-skinned mice with topical forskolin causes persistent tanning and UV protection, *Pigment Cell Melanoma Research* 22, 2008, 219–229.
- [69]. T. Passeron, T. Namiki, H. Passeron, E. Le Pape, V.J. Hearing, Forskolin protects keratinocytes from ultraviolet (UV) B-induced apoptosis and increases DNA repair independent of its effects on melanogenesis, *Journal of Investigative Dermatology* 129, 2009, 162–166.
- [70]. J. Shoag, R. Haq, M. Zhang, L. Liu G.C. Rowe, A. Jiang, N. Koulisis, C. Farrel, Ch.I. Amos, Q. Wei, J.E. Lee, J. Zhang, T.S. Kupper, A.A. Qureshi, R. Cui, J. Han, D. E. Fisher, Z. Arany, PGC-1 coactivators regulate MITF and the tanning response, *Molecular Cell* 49, 2012, 145–157.

- [71]. A. Amaro-Ortiz, B. Yan, J.O. D’Orazio, Ultraviolet radiation, aging and the skin: prevention of damage by topical cAMP manipulation, *Molecules* 19, 2014, 6202–6219.
- [72]. K. Yamamura, M. Nakao, K. Yano, K. Miyamoto, T. Yotsuyanagi, Stability of forskolin in lipid emulsions and oil/water partition coefficients, *Chem. Pharm. Bull.* 39, 1991, 1032–1034.
- [73]. T. Yang, G. Stoopen, N. Yalpani, J. Vervoort, R. de Vos, A. Voster, F. Verstappen, H. Bouwmeester, M. Jongsma, Metabolic engineering of geranic acid in maize to achieve fungal resistance is compromised by novel glycosylation patterns, *Metab. Eng.* 13, 2011, 414–425.
- [74]. S. Choi, Inhibitory effects of geranic acid derivatives on melanin biosynthesis, *J. Cosmet. Sci.* 63, 2012, 351–358.
- [75]. S. Balanehru, B. Nagarajan, Protective effect of oleanolic acid and ursolic acid against lipid peroxidation, *Biochem. Int.* 24, 1991, 981–990.
- [76]. Z. Ovesna, A. Vachalkova, K. Horvathova, D. Tothova, Pentacyclic triterpenoic acids: new chemoprotective compounds Minireview, *Neoplasma* 51, 2004, 327–333.
- [77]. J. Liu, Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid, *Journal of Ethnopharmacology* 49, 1995, 57–68.
- [78]. K.H. Sohn, Anti-angiogenic activity of triterpene acids, *Cancer Letters* 94, 1995, 213–218.
- [79]. W. Hanson, Theoretical concepts, In: *Handbook of Dissolution Testing*, Pharmaceutical Technology Publications, Wiley, Springfield 1982.
- [80]. In vitro Skin Irritation Test: Human Skin Model, EpiDerm-200, Version: 7.0, 30.10.2007.
- [81]. M. Malinowska, B. Mirosław, E. Sikora, J. Ogonowski, A. Wojtkiewicz, M. Szaleniec, M. Pasikowska-Piwko, I. Eris, New lupeol esters as active substances in the treatment of skin damage, *PLoS One.*, 2019, DOI: 10.1371/journal.pone.0214216.

5 OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Oprócz prac wymienionych w pkt. 4.2. jestem współautorem 73 innych publikacji w czasopismach naukowych i branżowych oraz 26 rozdziałów w monografiach i materiałach pokonferencyjnych. Pierwotnie, przed i po doktoracie, moje zainteresowania naukowe dotyczyły katalizy heterogenicznej. Zajmowałam się badaniem właściwości fizykochemicznych i aktywności katalizatorów tlenkowych w procesie konwersji alkoholi do eterów. Praca doktorska, którą obroniłam na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechniki Krakowskiej, w 1998, dotyczyła badania procesu konwersji alkoholi metylowego i izobutyłowego do eterów. Obecnie jednak moje zainteresowania naukowe związane są z technologią organiczną małotonazową, obejmują zagadnienia dotyczące pozyskiwania, badania właściwości oraz zastosowaniem surowców pochodzenia naturalnego w produktach kosmetycznych i produktach chemii gospodarczej. Znakomita większość spośród wspomnianych w dorobku publikacyjnym prac porusza zagadnienia związane z technologią kosmetyków oraz zastosowaniem surowców pochodzenia naturalnego w produktach kosmetycznych i produktach chemii gospodarczej (szczegółowy wykaz publikacji znajduje się w Załączniku 7, pkt. II A i B str.5).

Ponieważ ważnym dla mnie aspektem działalności naukowej jest łączenie tematyki podjętych badań z możliwością ich aplikacji w przemyśle, oprócz prac wymienionych w pkt. II A i B (zał. 7), wyniki prowadzonych badań są przedmiotem 6 innych patentów (załącznik 7, pkt. II E, str. 19) i 14 zgłoszeń patentowych, w tym 3 międzynarodowych (załącznik 7, pkt. II F, str. 19). Moja współpraca naukowa z firmami z branży kosmetycznej, polega na licznych opracowaniach przemysłowych oraz analizach wykonywanych dla małych i średnich przedsiębiorstw. Prace zlecone obejmują: wdrożenia wynalazków, opracowania receptur preparatów kosmetycznych, analizę fizykochemiczną produktów kosmetycznych oraz usługi doradcze. Jako kierownik prac zleconych oraz projektów realizowanych we współpracy z przedsiębiorcami branży kosmetycznej współpracowałam z takimi firmami jak: Karite Plus Sp. z o.o, Laboratorium Kosmetyków Naturalnych "FARMONA", Adamed Sp. z o.o., Prof. Cosmetics Sp. z o.o., KF Nicolum Sp. z o.o. czy Finea Sp. z o.o. (zał. 7, pkt. III F4, str. 29).

Oprócz współpracy z przemysłem współpracuje z instytucjami naukowymi w kraju i zagranicą, realizując wspólne projekty i badania. Od 2008 roku prowadzę badania we współpracy z Wydziałem Technologii Żywności, Uniwersytetu Rolniczy im. Hugona Kołłątaja, a od 2011 z Faculty of Pharmacy, University of Barcelona oraz Institute of Advanced Chemistry of Catalonia, IQAC-CSIC, Barcelona, Hiszpania, czego efektem są wspólne publikacje. W 2018 nawiązałam współpracę z Université du Havre, we Francji, w ramach której została podpisana umowa o wymianie studentów i pracowników naukowych w ramach programu „Erasmus+”. Moje doświadczenie naukowe znalazło również uznanie w krajowym i międzynarodowym środowisku naukowym, o czym świadczą zaproszenia do wygłoszenia referatów i wykładów (zał. 7, pkt. II D, str. 18) oraz wykonania recenzji publikacji w takich czasopismach jak Central European Journal of Chemistry (Springer), Pharmaceutical Research (Springer), Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (Elsevier), Colloids and Surfaces A (Elsevier), SOJ Biochemistry (Publons), International Journal of Pharmaceutics, Industrial & Engineering Chemistry Research czy Przemysł Chemiczny (Wydawnictwo Sigma-NOT), (załącznik 7. pkt. II I, str. 21).

Swoją działalność naukową łączę z działalnością dydaktyczną i organizacyjną. Prowadzę liczne wykłady, zajęcia laboratoryjne i seminaria (załącznik 7. pkt. III A, str. 22). związane z technologią surowców i produktów kosmetycznych (w tym w języku angielskim). Jestem współautorem dwóch podręczników dydaktycznych (załącznik 7. pkt. III A, str. 21). Byłam wielokrotnie promotorem prac dyplomowych magisterskich i inżynierskich (142 prace). W dorobku mam również kilkadziesiąt recenzji prac dyplomowych.

5.1. Dane bibliometryczne ^a

Liczba cytowań ^b	SCOPUS	109
Indeks h ^b	SCOPUS	6
Wystąpienia konferencyjne i wykłady wygłoszone na zaproszenie	Komunikaty konferencyjne - ustne w języku angielskim	2
	Komunikaty konferencyjne - ustne w języku polskim	17
	Prezentacje konferencyjne - plakatowe	58
	Wykłady na zaproszenie	6 (2 w jęz. ang.)
	Sumarycznie	83
Publikacji w recenzowanych czasopismach naukowych	Indeksowane w JCR przed uzyskaniem tytułu doktora	1
	Indeksowane w JCR po uzyskaniu tytułu doktora	47
	Nie indeksowane w JCR przed uzyskaniem tytułu doktora	2
	Nie indeksowane w JCR po uzyskaniu tytułu doktora	35
	Sumarycznie indeksowanych w JCR	48
	Sumarycznie nie indeksowanych w JCR	35
	Sumarycznie wszystkich	83
	Patenty	11
	Zgłoszenia patentowe	14
	Rozdziały w monografiach	26
	Autorstwo monografii w języku angielskim	1
	Autorstwo podręczników	2
	Opracowania przemysłowe i analizy dla małych i średnich przedsiębiorstw	11
	Wdrożenia	6
Współczynnik wpływu (Impact Factor) ^c	Przed doktoratem	0,05
	Po doktoracie	56,711
	Sumarycznie	56,761

^a Szczegółowy spis prac naukowych, wygłoszonych referatów i prezentacji posterowych oraz inne wymienione w tabeli opracowania zawarto w Załączniku Nr 7.

^b Na dzień 26.03.2019

^c W roku publikacji

