

Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia



Wykorzystanie olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych w kosmetologii i medycynie

AUTOREFERAT

dr inż. Anna Herman

Warszawa 2015

1. Imię i Nazwisko: Anna Herman

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- **Magister inżynier biotechnologii**, specjalność procesy biotechnologiczne – 2 lipca 2004r. - Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska; Tytuł pracy magisterskiej „*Adsorpcja biosurfaktantów na powierzchni mineralów*” wykonywanej pod kierunkiem dr inż. Izabeli Polowczyk w Zakładzie Inżynierii Chemicznej.
- **Doktor nauk rolniczych** w zakresie zootechniki – 23 czerwca 2009r. – Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie k. Warszawy; Tytuł rozprawy doktorskiej „*Stabilność i aktywność fizjologiczna cząsteczki gonadoliberyny po jej skompleksowaniu z jonem miedzi*” wykonywanej pod kierunkiem dr hab. Aliny Gajewskiej w Zakładzie Neuroendokrynologii.
- **Dyplom ukończenia studiów podyplomowych** "Wiedza o kosmetykach i chemii kosmetycznej" - 2010r. - Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia w Warszawie; Tytuł pracy dyplomowej "Biosurfaktanty i ich zastosowanie".

3. Informacje o zatrudnieniu w jednostkach naukowych

X 2006 – II 2009	doktorant, specjalista , Zakład Neuroendokrynologii, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna k. Warszawy
III – IX 2009	starszy specjalista , Zakład Neuroendokrynologii, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna k. Warszawy
IX 2009 - nadal	adiunkt , zastępca koordynatora ds. programu Erasmus, wykładowca na studiach dziennych, zaocznych i podyplomowych, Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia, Warszawa
X 2012 - IX 2014	Pełnomocnik Rektora ds. Nauki , Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia, Warszawa

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Cykl publikacji pod tytułem:

Wykorzystanie olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych w kosmetologii i medycynie

4.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (autorzy, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania, punktacja MNiSW według komunikatu obowiązującego w roku wydania pracy i wskaźnik Impact Factor)

- 1. Herman A, Herman AP, Domagalska BW, Młynarczyk A.** Essential oils and herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetic emulsion. *Indian Journal of Microbiology.* 2013;53(2):232-237.

IF - 0,832; MNISW - 15 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy dotyczył sformułowania koncepcji badań, zaplanowania i wykonania większości doświadczeń mikrobiologicznych (określenie własności przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych, wykonanie testów konserwacji), opracowania i interpretacji wyników badań a także przygotowania manuskryptu do druku, którego jestem autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

- 2. Herman A.** Comparison antimicrobial activity of a essential oils, plant extracts and methylparaben in cosmetic emulsions: 2-months study. *Indian Journal of Microbiology.* 2014;54(3):361-364.

IF - 0,832; MNISW - 15 pkt

- 3. Herman A, Tor M, Brud WS.** Własności przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze olejku i ekstraktów z liści pelargonii pachnącej *Pelargonium graveolens*. *Aromaterapia i nauka.* 2014;1(75):15-27.

IF - brak; MNISW - brak

Mój wkład w powstanie tej pracy dotyczył sformułowania koncepcji badań, zaplanowania doświadczeń, współdziałal w opracowaniu wyników, interpretacji otrzymanych wyników badań a także przygotowania pracy do druku. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

- 4. Herman A, Młynarczyk A.** Essential oils and plant extracts with activity against oral microorganisms: prevention and treatment of oral diseases. *Israel Journal of Plant Sciences*. 2014;0(0), 8 pages, DOI 10.1080/07929978.2014.961750.

IF - 0,419; MNISW - 15 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy dotyczył sformułowania koncepcji badań, zaplanowania i wykonania doświadczeń mikrobiologicznych (określenie własności przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych), opracowaniu i interpretacji wyników badań wraz z ich analizą statystyczną a także przygotowanie manuskryptu do druku, którego jestem autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

- 5. Herman A, Bochenek J, Herman AP.** Effect of cinnamon and lavender oils on ftsz gene expression in the *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2013;49(5):476-480.

IF - 0,658; MNISW - 15 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy dotyczył sformułowania koncepcji badań, zaplanowania doświadczeń, przeprowadzenie hodowli mikrobiologicznych i wyznaczenie stężeń olejków eterycznych przy których następowało zahamowanie wzrostu bakterii, interpretacji wyników badań a także przygotowania manuskryptu do druku, którego jestem autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

- 6. Herman A, Herman AP.** Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2014; DOI: 10.1111/jphp.12334.

IF - 2,161; MNISW - 25 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy dotyczył sformułowania koncepcji pracy, dokonania przeglądu literatury naukowej w zakresie tematów poruszanych w manuskrypcie oraz przygotowania pracy do druku, której jestem autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Sumaryczny *impact factor* publikacji naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według listy Journal Citation Reports (JCR): **4,902**

Sumaryczna ilość punktów MNiSW publikacji naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **85 pkt**

Oświadczenia współautorów o udziale własnym w przygotowaniu powyższych prac stanowiących szczególne osiągnięcia naukowe znajdują się w **załączniku 8**.

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.3.1. Wprowadzenie i cel naukowy

Zainteresowanie coraz większej części społeczeństwa zdrowym stylem życia, powrotem do wszystkiego co naturalne i ekologiczne sprawia, że wśród konsumentów, a co za tym idzie w przemyśle zarówno kosmetycznym jak i farmaceutycznym, wzrasta popyt na surowce pochodzenia roślinnego, które coraz częściej stają się doskonałą alternatywą dla związków syntetycznych. Wydaje się, że związki biologicznie czynne pochodzenia roślinnego mogą być tanimi i skutecznymi zamiennikami konserwantów stosowanych w kosmetykach (Aburjai i Natsheh, 2003) a nawet antybiotyków i związków aktywnych wchodzących w skład leków (Edris AE, 2007; Hamid i wsp., 2011).

Konserwanty są to związki dodawane do produktów w celu utrzymania ich czystości mikrobiologicznej podczas wytwarzania, pakowania, magazynowania oraz podczas całego okresu użytkowania. Należy podkreślić, że nieodpowiednie dobranie systemu konserwującego do receptury kosmetyku skutkuje wzrostem mikroorganizmów, które nie tylko powodują obniżenie jakości wyrobu, aż do utraty jego właściwości, ale również mogą stać się przyczyną poważnych infekcji u użytkowników. Pomimo tego, że konserwanty są dodawane do kosmetyków w bardzo małych stężeniach, zalicza się je obok substancji zapachowych do najbardziej kontrowersyjnych surowców, będących jedną z najczęstszych przyczyn alergii u użytkowników. Do najczęściej stosowanych konserwantów w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym należą parabeny czyli estry kwasu p-hydroksybenzoesowego (metyloparaben, etyloparaben, propyloparaben) oraz jego analogi (butyloparaben, izopropyloparaben, izobutyloparaben, benzyloparaben). Kwestia bezpieczeństwa stosowania parabenów budzi wiele kontrowersji. Istnieją prace sugerujące, że parabeny mogą wywołać bezpłodność u mężczyzn oraz zwiększać ryzyko zachorowania na

nowotwory skóry i raka piersi (Crinnion, 2010). Z tego powodu, Komisja Europejska wydała dokument regulujący kwestię stosowania parabenów w kosmetykach (Rozporządzenie komisji (UE) nr 358/2014, 2014). W dokumencie tym, ze względu na brak badań potwierdzających bezpieczeństwo stosowania izoparabenów (izopropyloparaben, izobutyloparaben, pentyloparaben, benzyloparaben, fenyloparaben) zostały one zakazane w kosmetykach. Stwierdzono, że propyloparaben i butyloparaben mogą być bezpiecznie stosowane w kosmetykach gdy suma ich stężeń nie przekracza 0,19 %. Przy czym zakazano ich stosowania w produktach dla dzieci poniżej 3 lat ze względu na ich potencjalny wpływ na funkcjonowanie układu hormonalnego. Natomiast zakres stosowania metyloparabenu i etyloparabenu pozostał bez zmian (0,4% dla jednego z parabenów i 0,8 % dla mieszaniny parabenów w przeliczeniu na kwas benzoesowy). W związku z potencjalnym ryzykiem, jakie niesie dla zdrowia użytkowników stosowanie syntetycznych konserwantów, producenci starają się do minimum ograniczać ich zawartość w kosmetykach, przy jednoczesnym utrzymaniu czystości mikrobiologicznej kosmetyku. Dlatego nieustannie poszukuje się nowych układów alternatywnych dla konserwantów syntetycznych. Szczególnie atrakcyjną grupę surowców dla przemysłu kosmetycznego wydają się stanowić olejki eteryczne i ekstrakty roślinne (Aburjai i Natsheh, 2003). Wprowadzenie olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych do receptury kosmetyków w stężeniu 0,5 – 5 % (wysoka zdolność przeciwdrobnoustrojowa) może znacznie ograniczyć lub nawet całkowicie wykluczyć konieczność dodawania do niego syntetycznych konserwantów. Warto także podkreślić, że olejki eteryczne i ekstrakty roślinne obok silnego działania przeciwbakteryjnego, przeciwgrzybiczego, przeciwwirusowego, przeciwpasożytniczego (Cowan, 1999; Reichling i wsp., 2009) wykazują również właściwości antyoksydacyjne i przeciwzapalne (Miguel MG, 2010; Kim i wsp., 1997), przeciwnowotworowe (Torres Salazar i wsp., 2011; Talib i Mahasneh, 2010), stymulują układ immunologiczny (Spelman i wsp., 2006), wspomagają gojenie się ran (Woollard i wsp., 2007; Kumar i wsp., 2007), co sprawia, że mogą one pełnić w kosmetyku wiele różnorodnych funkcji jednocześnie.

Również w medycynie tradycyjnej strategie terapeutyczne stosowane w leczeniu chorób bakteryjnych i grzybiczych coraz częściej dają niezadowalające rezultaty. Szczególny problem w leczeniu chorób bakteryjnych stanowią szczepy antybiotykooporne (metycylinooporny szczep *Staphylococcus aureus* (MRSA), metacylinowrażliwy szczep *Staphylococcus aureus* (MSSA), wankomycynooporny szczep *Staphylococcus aureus* (VRSA), *Staphylococcus aureus* średniooporny na wankomycynę (VISA), enterokoki wankomycynooporne (VRE), wielooporne szczepy *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*,

Klebsiella pneumoniae wytwarzające β -laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ESBL), wielooporne szczepy *Pseudomonas aeruginosa*), których ilość rośnie w zastraszającym tempie, stanowiąc coraz większe wyzwanie dla konwencjonalnej medycyny. Ich obecność związana jest ze zwiększeniem kosztów leczenia, a także utrudnioną kontrolą zakażeń wynikającą z rozprzestrzeniania się opornych szczepów ze szpitala do społeczności. Istnieje zatem pilna potrzeba poszukiwania związków alternatywnych do antybiotyków oraz nowych, bardziej skutecznych metod leczenia. W ostatnich latach, obserwuje się znaczący wzrost zainteresowania przemysłu farmaceutycznego substancjami pochodzenia roślinnego wykazującymi silne działanie przeciwdrobnoustrojowe. Związki te, mogą być tanimi i skutecznymi terapeutykami stosowanymi w profilaktyce i leczeniu wielu chorób, w tym także wywołanych szczepami antybiotykoopornymi (Sibanda i Okoh, 2007; Yap i wsp, 2014). Ponadto, produkty naturalne posiadają wiele innych zalet takich jak wywoływanie mniejszej ilości działań niepożądanych, są lepiej tolerowane przez pacjenta oraz charakteryzują się dobrą biodegradowalnością (Silva i Fernandes, 2010). Wydawałoby się, że olejki eteryczne i ekstrakty roślinne, które od wieków były stosowane w medycynie ludowej, w niedalekiej przyszłości mogą się okazać alternatywą dla syntetycznych środków powszechnie stosowanych w lecznictwie lub w połączeniu z nimi znacząco obniżać ich stężenie w lekach.

Celem podjętych badań było określenie właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych wybranych olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych przy uwzględnieniu ich potencjalnego zastosowania w kosmetologii i medycynie.

Przedstawione poniżej prace miały udzielić odpowiedzi na następujące pytania:

- Czy wybrane olejki eteryczne i ekstrakty roślinne posiadają własności przeciwdrobnoustrojowe?
- Czy wybrane olejki eteryczne i ekstrakty roślinne dodane do kosmetyku mogą być zamiennikami tradycyjnie stosowanych syntetycznych konserwantów?
- Czy wybrane olejki eteryczne i ekstrakty roślinne dodane do kosmetyku będą pozwalały zachowywać czystość mikrobiologiczną kosmetyku podczas jego przechowywania i stosowania przez użytkowników?
- Czy olejki eteryczne i ekstrakty roślinne będą hamowały wzrost naturalnej i patogennej mikroflory jamy ustnej?
- Czy olejki eteryczne i ekstrakty roślinne mogą być stosowane w produktach do higieny jamy ustnej i preparatach stomatologicznych?

- Czy olejki eteryczne i ekstrakty roślinne mogą być zamiennikami antybiotyków stosowanych w chorobach jamy ustnej?
- Jaki jest mechanizm działania olejków eterycznych na komórki bakteryjne?
- Czy olejki eteryczne i ich składniki aktywne mogą być promotorami przenikania przez naskórkowego związków aktywnych z leków?

4.3.2. Omówienie ww. prac i osiągniętych wyników

W ostatnich latach na rynku kosmetyków pojawił się nowy trend na produkty nazywane naturalnymi (wytwarzane w dużym stopniu ze składników pochodzenia roślinnego) lub organicznymi (wytwarzane ze składników pochodzących z upraw ekologicznych), które mogą wykorzystywać jedynie nieliczne syntetyczne konserwanty, zaliczane do tzw. konserwantów identycznych z naturalnymi (np. kwas benzoesowy, kwas salicylowy, kwas sorbowy, kwas dehydrooctowy, alkohol benzylowy). Aby rozwiązać problem konserwacji kosmetyków naturalnych/organicznych oraz ograniczyć występowanie alergii u użytkowników stosujących produkty zawierające syntetyczne konserwanty poszukuje się alternatywnych sposobów zachowania czystości mikrobiologicznej kosmetyków. Jedną z możliwości jest wykorzystanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych związków pochodzenia roślinnego - ekstraktów roślinnych i olejków eterycznych. Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie czy wybrane olejki eteryczne (cynamonowy *Cinnamomum zeylanicum*, lawendowy *Lavandula officinalis*, drzewa herbacianego *Melaleuca alternifolia*) i ekstrakty roślinne (rumiankowy *Matricaria chamomilla*, nagietkowy *Calendula officinalis*, aloesowy *Aloe vera*) posiadają na tyle silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, aby zastąpić dodatek syntetycznego konserwantu (metyloparaben) w kosmetykach (**publikacja 1**). Wyniki testów wykonanych metodą dyfuzyjno-krażkową wykazały, że najsilniejsze właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze posiadały olejki eteryczne a następnie, na porównywalnym względem siebie poziomie metyloparaben i ekstrakty roślinne. Przeprowadzone testy konserwacji, polegające na kontrolowanym zakażaniu mikroorganizmami referencyjnymi kremów w celu potwierdzenia skuteczności działania konserwantu w recepturze kosmetyku wykazały, że olejki eteryczne i ekstrakty roślinne odpowiednio 3,5-krotnie i 1,7-krotnie silniej hamowały wzrost bakterii i drożdży w porównaniu z syntetycznym konserwantem - metyloparabenem. Ponadto, z pośród wszystkich przebadanych olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych najsilniejsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe posiadał olejek cynamonowy, który najefektywniej zabezpieczał kosmetyk przed namnażaniem się szczepów mikroorganizmów referencyjnych podczas

całego czasu trwania testu konserwacji (28 dni). Na podstawie wyników powyższych badań stwierdzono, że dodatek olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych w stężeniu 2,5 % pozwala wykluczyć konieczność dodawania metyloparabenu do kosmetyków.

Należy podkreślić, że testy konserwacji to badania przeprowadzane w laboratorium w ściśle określonych warunkach i na określonych zasadach (kosmetyk zakażany jest 1 szczepem testowym i tylko jeden raz w ciągu 28 dni trwania testu; kosmetyk jest przechowywany w temp. 20 - 25 °C w zaciemnionym miejscu). Warunki te, jednak nie do końca odzwierciedlają sposobu przechowywania i stosowania kosmetyków przez użytkowników. W trakcie użytkowania kosmetyk zakażany jest wieloma różnymi szczepami mikroorganizmów kolonizujących ręce i ciało użytkownika oraz wielokrotnie za każdym razem podczas aplikacji kosmetyku na skórę w ciągu okresu wykorzystania całego opakowania kosmetyku, czyli przez ok. 2 miesiące. Miejsce przechowywania kosmetyków, którym jest zazwyczaj łazienka, charakteryzuje się zmienną temperaturą i wilgotnością powietrza. Dlatego też, celem kolejnych badań było sprawdzenie czy kosmetyki z dodatkiem olejków eterycznych, ekstraktów roślinnych i metyloparabenu zachowują czystość mikrobiologiczną podczas 2-miesięcznego okresu przechowywania i stosowania kosmetyku przez probantów w wyżej opisanych warunkach (**publikacja 2**). Stwierdzono, że wszystkie kosmetyki konserwowane ekstraktami roślinnymi oraz olejkami: lawendowym i drzewa herbacianego, przestały spełniać kryteria czystości mikrobiologicznej po 4 tygodniach stosowania przez użytkowników. Jedynie olejek cytrynowy całkowicie zahamował wzrost bakterii, drożdży i pleśni w kosmetyku podczas 2 miesięcy jego stosowania przez probantów. Jednocześnie udowadniając, że olejek cytrynowy w stężeniu 2,5 % może być efektywnym zamiennikiem syntetycznego konserwantu - metyloparabenu w kosmetykach. Należy podkreślić, że u żadnego z probantów testujących krem zawierający olejek cytrynowy nie stwierdzono objawów alergii skórnej. Ponadto badania te dowiodły, że przeprowadzenie testu konserwacji jest niewystarczające, aby stwierdzić, że system konserwujący jest poprawnie dobrany do receptury kosmetyku oraz gwarantuje odpowiednią czystość mikrobiologiczną kosmetyku podczas całego okresu jego stosowania i przechowywania.

Jednym z olejków eterycznych, który jest stosunkowo często stosowany w przemyśle kosmetycznym i medycynie jest olejek geraniowy pozyskiwany z liści *Pelargonium graveolens*. Ze względu na intensywny i trwały zapach z nutami mięętowymi i różanymi oraz relatywnie niską cenę jest powszechnie stosowany do produkcji perfum, w których występuje nuta kwiatowa oraz w różnego rodzaju zabiegach aromaterapeutycznych. Olejek geraniowy i hydrolaty geraniowe wykorzystywane są do produkcji kosmetyków, np. przeciwcellulitowych

(stymuluje pracę układu krwionośnego i limfatycznego, co skutkuje wydalaniem produktów przemiany materii i toksyn), przeciwłupieżowych, do pielęgnacji cery trądzikowej (właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne, regulacja produkcji sebum) i dojrzałej (silne właściwości antyoksydacyjne, przyspiesza procesy ziarninowania naskórka). Z kolei w medycynie olejek geraniowy powszechnie wykorzystywany jest w leczeniu przeziębień, grypy, zapaleń gardła, zatok, przy zmianach skórnych (egzemy, liszaje, opryszczka, łupież), infekcji układu moczowo-płciowego, zapaleń błony śluzowej jamy ustnej, nerwobóli i reumatyzmu. Warto podkreślić, że kraj pochodzenia rośliny, warunki glebowe i klimatyczne, etap rozwoju rośliny, użyta część wegetatywna oraz rodzaj i metody destylacji w dużym stopniu determinują skład jakościowy i ilościowy związków aktywnych zawartych w materiałach pochodzenia roślinnego, co w konsekwencji przekłada się na ich aktywność biologiczną. Celem pracy było porównanie właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych olejku geraniowego, hydrolatu geraniowego (produkt uboczny pozyskiwane w procesie destylacji z parą wodną liści, łodygi i kwiatów geranium) oraz ekstraktów pozyskanych z liści *Pelargonium graveolens* pochodzących z egipskich plantacji p. Hussain Fakhry (A. Fakhry & Co 11451 Cairo, Egipt) (**publikacja 3**). Wykazano, że olejek geraniowy działał silniej na badane szczepy mikroorganizmów w porównaniu z ekstraktami (etanolowymi, metanolowymi, wodnymi, glikolowymi, glicerynowym) z liści *Pelargonium graveolens* oraz hydrolatem geraniowym. Ponadto, stwierdzono, że olejek geraniowy posiada wysoką aktywność przeciwgrzybiczą oraz słabszą przeciwbakteryjną. Olejek geraniowy działał 2,4-krotnie silniej w stosunku do drożdży *Candida albicans* i 2,6-krotnie silniej w stosunku do pleśni *Aspergillus brasiliensis* w porównaniu z antybiotykiem przeciwgrzybicznym – amfoterycyną B. Spośród badanych ekstraktów z liści *Pelargonium graveolens* jedynie ekstrakt etanolowy wykazał właściwości przeciwbakteryjne hamując wzrost szczepów *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* porównywalnie z antybiotykiem – kanamycyną. Zatem, olejek geraniowy otrzymywany z liści *Pelargonium graveolens* może potencjalnie stanowić uzupełnienie antybiotykoterapii przy zakażeniach bakteryjnych oraz w sposób szczególny przy zakażeniach grzybiczych. Warto podkreślić, że większość zakażeń grzybiczych wymaga interwencji lekarskiej i często długotrwałego leczenia miejscowego i/lub doustnego podania antybiotyków. Wydaje się zatem, że terapia ukierunkowana na hamowanie wzrostu grzybów chorobotwórczych z wykorzystaniem właściwości olejku geraniowego może pomóc w osiągnięciu pozytywnego efektu terapeutycznego.

Dzięki swoim właściwościom przeciwdrobnoustrojowym olejki eteryczne i ekstrakty roślinne mogą być także obiecującymi surowcami wykorzystywanymi w przemyśle

kosmetycznym do produkcji preparatów do higieny jamy ustnej oraz w przemyśle farmaceutycznym do produkcji środków wykorzystywanych w prewencji oraz leczeniu chorób jamy ustnej. W celu potwierdzenia tej hipotezy przeprowadzono kolejne badania mające na celu porównanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych, ekstraktów roślinnych i antybiotyków oraz określenie ich wpływu na mikroflorę fizjologiczną i patogenną jamy ustnej (**publikacja 4**). Przeprowadzone badania wykazały, że olejki eteryczne silniej hamują wzrost mikroorganizmów zarówno wchodzących w skład mikroflory fizjologicznej jak i patogennej jamy ustnej człowieka w porównaniu z ekstraktami roślinnymi i antybiotykami. Najsilniejsze właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze posiadał olejek eteryczny oraz ekstrakt etanolowy z tymianku *Thymus vulgaris*, które hamowały wzrost wszystkich szczepów mikroorganizmów wyizolowanych z jamy ustnej zarówno mikroflory fizjologicznej jak i patogennej człowieka. W zależności od testowanego szczepu mikroorganizmów olejek tymiankowy hamował od 3- do 8-krotnie silniej wzrost bakterii oraz na porównywalnym poziomie do testowanych antybiotyków hamował wzrost drożdży. Olejek miętowy *Mentha piperita* hamował wzrost *Candida albicans* i *Staphylococcus aureus* 3-krotnie silniej w porównaniu odpowiednio z antybiotykami amfoterycyną, mikonazolem i timentinem oraz 2-krotnie silniej hamował wzrost *Proteus mirabilis* i *Staphylococcus aureus* w porównaniu z gentamycyną, oflaksacyną i tetracykliną. Ponadto, olejek miętowy hamował wzrost *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* porównywalnie z tetracykliną, ampicyliną i gentamycyną. Olejki szalwiowy *Salvia officinalis* i rozmarynowy *Rosmarinus officinalis* hamowały wzrost wszystkich testowanych mikroorganizmów na podobnym poziomie jak antybiotyki. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że olejki eteryczne i ekstrakty roślinne posiadały o wiele szerszy zakres aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej w porównaniu do antybiotyków, które były aktywne wobec konkretnych szczepów mikroorganizmów. Wykazano, między innymi, że aby zahamować wzrost wszystkich szczepów mikroorganizmów patogennych jamy ustnej testowanych w badaniach należałoby zadziałać mieszaniną antybiotyków (tetracyklina + mikonazol/amfoterycyna B) lub zastosować jedynie olejek tymiankowy. Dlatego też, olejki eteryczne i ekstrakty roślinne używane samodzielnie lub w połączeniu z antybiotykami mogą podnieść ich efektywność, przez co obniżyć stężenie antybiotyków obecnie stosowanych w leczeniu wielu chorób jamy ustnej a nawet stanowić alternatywę w momencie kiedy tradycyjne antybiotyki zawodą.

Mechanizm działania na komórki mikroorganizmów antybiotyków lub innych związków posiadających właściwości przeciwdrobnoustrojowe jest bardzo złożony i

wielokierunkowy. Polega on między innymi na denaturacji białek błonowych, której następstwem jest dezintegracja błony komórkowej i liza komórki mikroorganizmu. Mogą one także powodować inaktywację enzymów biorących udział w syntezie błony i ściany komórkowej oraz organelli komórkowych, zakłócać przepuszczalność błony komórkowej i przepływu elektronów, hamować syntezę DNA, RNA, białek i polisacharydów biorących udział w procesach metabolicznych i podziałach komórkowych. Natomiast, mechanizm przeciwdrobnoustrojowego działania olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych na komórki mikroorganizmów nie jest dobrze poznany i dostępnych jest niewiele danych literaturowych opisujących to zagadnienie. Przepuszcza się, że olejki eteryczne, jako substancje o dużej lipofilności, łatwo przenikają przez ścianę i błonę komórkową mikroorganizmów powodując zaburzenie integralności tych struktur oraz upośledzenia działania istotnych dla przeżycia drobnoustrojów systemów enzymatycznych i szlaków metabolicznych, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórki. Sądzi się również, że jednym z możliwych mechanizmów działania olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych jest hamowanie podziałów komórkowych. Znaczącą rolę w mechanizmie podziałów komórkowych odgrywa białko FtsZ (z j. ang. *Filamenting temperature-sensitive mutant Z*), które inicjuje tworzenia się przegrody oddzielającej siostrzane komórki bakteryjne po podziale komórki macierzystej. Związki, hamujące ekspresję i aktywność białka FtsZ uniemożliwiają podziały komórek bakterii, przez co skutecznie wstrzymują rozwój choroby. Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie czy olejki lawendowy i cynamonowy wpływają na ekspresję genu FtsZ u bakterii *Staphylococcus aureus* (**publikacja 5**). Otrzymane wyniki badań, , uzyskane metodą Real-Time PCR, jako pierwsze w literaturze światowej, pokazują, że olejki eteryczne lawendowy i cynamonowy istotnie zmniejszają ekspresję genu FtsZ u bakterii *S. aureus*, hamując w ten sposób podziały komórkowe tych bakterii. Wyniki powyższego badania stanowią podstawę do dalszych, pogłębionych badań wyjaśniających mechanizm działania olejków eterycznych na proces wzrostu bakterii.

Skuteczne działanie składników biologicznie aktywnych kosmetyku/leku determinuje nie tylko ich aktywność potwierdzoną badaniami *in vitro*, ale również efekt końcowy, czyli działanie na konkretne komórki docelowe organizmu. W przypadku związków aktywnych znajdujących się w kosmetykach lub lekach stosowanych bezpośrednio na skórę istotna jest ich zdolność do pokonywania bariery naskórkowej i wnikania w głębsze warstwy skóry, która warunkuje ich terapeutyczne działanie. Przenikanie substancji przez skórę jest procesem skomplikowanym, na który wpływ ma szereg czynników, w tym struktura fizykochemiczna związku aktywnego, która determinuje jego zdolność do przeniknięcia przez najbardziej

zewnątrzną warstwę komórek skóry - stratum corneum (SC), stanowiących barierę chroniącą organizm przed wniknięciem szkodliwych substancji. Jedynie nieliczne związki chemiczne są w stanie przeniknąć przez SC. Zdolność tą, posiadają olejki eteryczne, które nie tylko same w sobie przenikają przez barierę naskórkową, ale mogą również stanowić promotory przenikania przez naskórkowego dla innych substancji aktywnych (hydrofilowych i hydrofobowych) z kosmetyków i leków do głębszych warstw skóry a następnie do krwiobiegu i tkanek docelowych. Celem pracy było zaprezentowanie bieżącego stanu wiedzy dotyczącej olejków eterycznych i ich składników aktywnych jako promotorów przenikania związków aktywnych z leków, wyjaśnienia mechanizmu ich działania oraz kwestii bezpieczeństwa ich stosowania (**publikacja 6**). W pracy opisano między innymi, że olejki eteryczne jako promotory przenikania składników aktywnych leków aplikowanych na skórę ułatwiają im wniknięcie do głębszych warstw skóry wykorzystując mechanizmy: dezintegracji ułożenia lipidów znajdujących się pomiędzy korneocytami a warstwą SC oraz interakcji z proteinami zewnątrzkomórkowymi powodując zmianę ich konformacji co w konsekwencji powoduje wzrost przepuszczalności SC dla związków aktywnych. Wykazano, że olejki eteryczne ułatwiają przenikanie przez skórę związków aktywnych tj. 5-fluorouracyl, ibuprofen, aminofilina, kwas p-aminobenzoesowy, labetalol, flurbiprofen, piroksydam, trazodon, estradiol, ketokonazol, diklofenak, chlorheksydyna, nitrendipina, indometacyna, kwas benzoowy. Warto w tym momencie podkreślić, że niezwykle ważną zaletą olejków eterycznych jest przede wszystkim to, że z jednej strony łatwo przenikają przez SC i wraz z krwią trafiają do tkanek docelowych, a z drugiej strony są szybko (po ok. 90 minutach) metabolizowane przez organizm, nie odkładają się w tkankach oraz łatwo są usuwane z organizmu wraz z moczem lub kałem, przez co można je uznać za bezpieczne dla człowieka.

4.3.3. Podsumowanie wyników badań stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

Podsumowując, opisane powyżej badania wykazały, że produkty pochodzenia roślinnego - olejki eteryczne i ekstrakty roślinne, posiadają silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, które mogą znaleźć zastosowanie zarówno w przemyśle kosmetycznym jak i farmaceutycznym. Olejki eteryczne posiadają silniejsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe w porównaniu z ekstraktami roślinnymi, dlatego też mogą pełnić funkcje konserwantu i być zamiennikami tradycyjnie stosowanych syntetycznych konserwantów w kosmetykach. Wykazano także, że w celu weryfikacji skuteczności działania środka konserwującego olejków eterycznych, dodatkowo poza standardowymi testami konserwacji, niezbędne jest wykonanie poszerzonych badań z większą ilością szczepów

kolonizujących skórę ludzką. Olejki eteryczne i ekstrakty roślinne mogą być również stosowane w produktach do higieny jamy ustnej i preparatach stomatologicznych, ponieważ hamują wzrost naturalnej i patogennej mikroflory jamy ustnej człowieka. Wydaje się, że olejki eteryczne mogą być stosowane jako zamienniki antybiotyków lub znacząco obniżać ich stężenie podczas leczenia pacjentów z chorobami jamy ustnej. Wykazano także, że mechanizm działania olejków eterycznych jest zbliżony do mechanizmu działania antybiotyków i ukierunkowuje się na hamowanie podziałów komórek bakteryjnych. Olejki eteryczne i związki aktywne wchodzące w ich skład mogą być również wykorzystane jako promotory przenikania przez naskórkowe różnych związków aktywnych biologicznie stosowanych w lekach.

4.3.4. Piśmiennictwo

Aburjai T, Natsheh FM. Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*. 2003;17(9):987-1000.

Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(4):564-582.

Crinnion WJ. Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. *Alternative Medicine Review*. 2010;15(3):190-196.

Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*. 2007;21(4):308-323.

Hamid AA, Aiyelaagbe OO, Usman LA. Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. *International Journal of Current Research*. 2011;33(2):086-098.

Kim BJ, Kim JH, Kim HP, Heo MY. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. *International Journal of Cosmetic Science*. 1997;19(6):299-307.

Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing-exploring medicinal plants of India. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;114(2):103-113.

Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*. 2010;15(12):9252-9287.

Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties—an overview. *Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine*. 2009;16(2):79-90.

Rozporządzenie komisji (UE) nr 358/2014 z dnia 9 kwietnia 2014r zmieniające załączniki II i V do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 dotyczącego produktów kosmetycznych.

Sibanda T, Okoh AI. The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *African Journal of Biotechnology*. 2007;6 (25):2886-2896.

Silva NCC, Fernandes Júnior A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2010;16(3):402–413.

Spelman K, Burns JJ, Nichols D, Winters N, Ottersberg S, Tenborg M. Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators. *Alternative Medicine Review*. 2006;11(2):128-150.

Talib WH, Mahasneh AM. Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine. *Scientia Pharmaceutica*. 2010;78(1):33-45.

Torres Salazar A, Hoheisel J, Youns M, Wink M. Anti-inflammatory and anti-cancer activities of essential oils and their biological constituents. *International Journal of Clinical Pharmacology and Theraphy*. 2011;49(1):93-95.

Yap PSX, Yiap BC, Ping HC, Lim SHE. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The Open Microbiology Journal*. 2014;8:6-14.

Woollard AC, Tatham KC, Barker S. The influence of essential oils on the process of wound healing: a review of the current evidence. *Journal of Wound Care*. 2007;16(6):255-257.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych po uzyskaniu stopnia doktora

5.1. Wykaz innych (niewchodzących w skład osiągnięcia wymienionego w pkt 4) opublikowanych prac naukowych oraz wskaźniki dokonań naukowych

5.1.1. Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC) (autorzy, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania, punktacja MNiSW według komunikatu obowiązującego w roku wydania pracy i wskaźnik Impact Factor)

1. Herman AP, Misztal T, **Herman A**, Tomaszewska-Zaremba D. Expression of interleukin (IL)-1 β and IL-1 receptors genes in the hypothalamus of anoestrous ewes after lipopolysaccharide treatment. *Reproduction in Domestic Animals*. 2010;45(6):426-433.

IF - 1,606; MNISW - 32 pkt

2. **Herman A**, Kozłowski H, Czauderna M, Kochman K, Kulon K, Gajewska G. Gonadoliberin (GnRH) and its copper complex (Cu-GnRH) enzymatic degradation in hypothalamic and pituitary tissue in vitro. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2012;63(1):69-75.
IF - 2,476; MNISW - 25 pkt
3. Herman AP, Krawczyńska A, Bochenek J, Haziak K, Antushevitch H, **Herman A**, Tomaszewska – Zaremba D. Inhibition of acetylcholinesterase activity by rivastigmine decreases LPS-induced interleukin-1 β expression in the hypothalamus of ewes. *Domestic Animal Endocrinology*. 2013;44(3):109-114.
IF - 1,783; MNISW - 30 pkt
4. Herman AP, Krawczyńska A, Bochenek J, Haziak K, Romanowicz K, Misztal T, Antushevich H, **Herman A**, Tomaszewska – Zaremba D. The effect of rivastigmine on the LPS-induced suppression of GnRH/LH secretion during the follicular phase of the estrous cycle in ewes. *Animal Reproduction Science*. 2013;138:203-212.
IF - 1,581; MNISW - 30 pkt
5. Herman AP, **Herman A**, Haziak K, Tomaszewska-Zaremba D. Immune stress up regulates TLR4 and Tollip gene expression in the hypothalamus of ewe. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 2013;22(1):13-18.
IF - 0,591; MNISW - 20 pkt
6. Wasilewska-Dziubinska E, Gajewska A, **Herman A**, Wolinska-Witort E, Skrzypaska J, Martynska L, Kalisz M, Chmielowska M. The effect of valproate (VPA) treatment on inositol phosphates (IPs) accumulation in non-stimulated and GnRH-treated female rat anterior pituitary cells in vitro. *Neuroendocrinology Letters*. 2013;34(4):302-308.
IF - 0,935; MNISW - 15 pkt
7. Herman AP, Krawczyńska A, Bochenek J, Dobek E, **Herman A**, Tomaszewska-Zaremba D. LPS-induced inflammation potentiates the IL-1 β -mediated reduction of LH secretion from the anterior pituitary explants. *Clinical & Developmental Immunology*. 2013;2013:ID 926937, 7 pages.
IF - 2,934; MNISW - 25 pkt

8. **Herman A**, Herman AP. Caffeine's mechanisms of action and its cosmetic use. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2013; 26(1):8-14.
IF - 1,964; MNISW - 35 pkt
9. **Herman A**, Herman AP. Nanoparticles as antimicrobial agents: their toxicity and mechanisms of action. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2014;14(1):946-957.
IF - 1,339; MNISW - 20 pkt
10. Ratz-Łyko A, **Herman A**, Arct J, Pytkowska K. Evaluation of antioxidant activity and antimicrobial properties of *Oenothera biennis*, *Borago officinalis* and *Nigella sativa* seedcake extracts. *Food Science and Biotechnology*. 2014;23(4):1029-1036.
IF - 0,656; MNISW - 15 pkt
11. Ratz-Łyko A, Arct J, **Herman A**, Pytkowska K, Majewski S. The effect of enzymatic hydrolysis on the biological properties of *Oenothera biennis*, *Borago officinalis* and *Nigella sativa* seedcake by-products from oil pressing. *International Journal of Food Science and Technology*. 2014;49(7):1689-1698.
IF - 1,354; MNISW - 25 pkt
12. Herman AP, Krawczyńska A, Bochenek J, Antushevich H, **Herman A**, Tomaszewska-Zaremba D. Peripheral injection of SB203580 inhibits the inflammatory-dependent synthesis of proinflammatory cytokines in the hypothalamus. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2014; Article ID 475152, 10 pages, DOI 10.1155/2014/475152.
IF - 2,706; MNISW - 30 pkt
13. Herman AP, Krawczyńska A, Bochenek J, Antushevich H, **Herman A**, Tomaszewska-Zaremba D. Involvement of prolactin in the meloxicam-dependent inflammatory response of the gonadotropic axis to prolonged lipopolysaccharide treatment in anoestrous ewes. *Reproduction, Fertility and Development*. 2014; 10 pages, DOI 10.1071/RD13435.
IF - 2,577; MNISW - 30 pkt
14. Herman AP, **Herman A**, Skipor J, Krawczyńska A, Bochenek J, Tomaszewska-Zaremba D. Caffeine stimulates *in vitro* pituitary LH secretion in lipopolysaccharide-treated ewes. *Reproductive Biology*. 2014; DOI 10.1016/j.repbio.2014.12.001.
IF - 1,048; MNISW - 15 pkt

5.1.2. Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazach lub na liście, o których mowa w pkt 4

Rozdziały w monografiach (autorzy, tytuł monografii, nazwa wydawnictwa, rok wydania):

15. Herman A, Konserwanty z zasady doboru systemu konserwującego. Produkty niskiego ryzyka mikrobiologicznego, układy „self-preserving” i „preservative booster”. W: Kompendium wiedzy z zakresu kosmetologii i chemii gospodarczej. Wydawnictwo WSZKiPZ, Warszawa, 2013, 55-72.

16. Herman A, Ocena czystości mikrobiologicznej kosmetyków i higiena produkcji. W: Kompendium wiedzy z zakresu kosmetologii i chemii gospodarczej. Wydawnictwo WSZKiPZ, Warszawa, 2013, 73-90.

Publikacje naukowe (autorzy, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania, punktacja MNiSW według komunikatu obowiązującego w roku wydania pracy):

17. Herman A. Biosurfaktanty i ich zastosowanie. SOFW Journal. 2010;4:40-54.

18. Herman A. Biosurfaktanty w przemyśle kosmetycznym. SOFW Journal. 2011;1:34-41.

19. Herman A. Zastosowanie produktów pszczelich w kosmetologii. Cosmetology Today. 2/2012;22-27.

MNISW - 1 pkt

20. Herman A. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych w kosmetykach. Cosmetology Today. 2/2013;6-10.

Patenty i wdrożenia:

1. Brud W, Konopacka-Brud I, **Herman A**. Preparat do pielęgnacji skóry rąk. Polska. Patent, nr P-402321. Opubl. BUP nr 14, 2014.

5.1.3. Charakterystyka opublikowanych prac naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC) oraz monografii, publikacji naukowych w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazach lub na liście, których mowa w pkt 4 nie wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego

Od początku pracy naukowej w Wyższej Szkole Zawodowej Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia w Warszawie zajmuję się badaniem właściwości przeciwdrobnoustrojowych

substancji pochodzenia naturalnego tj. olejki eteryczne i ekstrakty roślinne oraz ich ewentualnego wykorzystania jako zamienników syntetycznych konserwantów tradycyjnie stosowanych w kosmetykach. Badania prowadzone w tym zakresie zaowocowały powstaniem publikacji naukowych (**publikacja 10, 11 i 20**), 2 rozdziałów w monografii "Kompedium wiedzy z zakresu kosmologii i chemii gospodarczej" (**publikacje 15 i 16**) oraz patentu, który został wdrożony przez Pollenę Aroma Sp. z o.o. (**patent 1**).

Rozdziały w monografii "Kompedium wiedzy z zakresu kosmologii i chemii gospodarczej" zostały poświęcone jednym z ważniejszych problemów, z jakimi boryka się przemysł kosmetyczny: zapewnieniu czystości mikrobiologicznej kosmetyków podczas procesu produkcyjnego i okresu użytkowania (**publikacja 16**) oraz konserwantom i doborom systemów konserwacji do receptury kosmetyków (**publikacja 15**). Szczególną uwagę poświęcono w nich kryteriom jakie musi spełniać kosmetyk przed wprowadzeniem go do obrotu w oparciu o wymogi zawarte w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia, Farmakopei Polskiej/Europejskiej lub normach PN-EN ISO oraz nowym systemom konserwującym, które w znaczący sposób mogą obniżyć ryzyko mikrobiologicznego zakażenia kosmetyku, tworząc tzw. produkty niskiego ryzyka mikrobiologicznego. Podkreślono również istotny potencjał olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych, jako surowców wspomagających system konserwujący (tzw. *preservative booster*) oraz surowców posiadających silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe mogące tworzyć samowystarczalny system konserwujący pomimo tego, że nie są zaliczane do konserwantów (tzw. *self-preserving system*).

Na podstawie przeprowadzonej analizy dostępnych patentów powstała praca przeglądowa opisująca kosmetyki wykorzystujące właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych (**publikacja 20**). Przede wszystkim są one wykorzystywane do produkcji kosmetyków przeznaczonych do pielęgnacji cery trądzikowej (olejki geraniowy, paczulowy, drzewa herbacianego, cynamonowy i lawendowy), atopowej (olejki różany i oregano oraz ich składniki aktywne odpowiednio linalol oraz tymol i karwakrol), preparatów anti-age (olejki z bazylii, oregano, rozmarynu, tymianku), płynów do higieny intymnej (olejki lawendowy, drzewa herbacianego, tymiankowy, rozmarynowy), szamponów przeciwłupieżowych (olejki geraniowy, sandałowy, lawendowy, rozmarynowy, cytrynowy i drzewa herbacianego), mydeł i płynów do dezynfekcji rąk (szeroka różnorodność olejków eterycznych) a także do past do zębów i płynów do higieny jamy ustnej (olejki miętowy, tymiankowy, eukaliptusowy oraz ich składniki aktywne odpowiednio – mentol, tymol i eukaliptol).

Byłam także zaangażowana w badania prowadzone nad własnościami przeciwdrobnoustrojowymi, przeciwutleniającymi i przeciwdrobnoustrojowymi biotechnologicznie przetworzonych wyłoków z nasion oleistych *Oenothera biennis* (wiesiołek dwuletni), *Borago officinalis* (ogórecznik lekarski) i *Nigella sativa* (czarnuszka siewna), które potwierdziły, że stanowią one wartościowy surowiec do produkcji kosmetyków przeciwstarzeniowych (**publikacje 10 i 11**). W badaniach tych wykazano, że powyższe ekstrakty z wyłoków nasion oleistych posiadają silne własności antyoksydacyjne, przy czym ekstrakt z nasion *Oenothera biennis* po hydrolizie enzymatycznej posiadał dwukrotnie silniejsze właściwości antyoksydacyjne w porównaniu z ekstraktem z przed hydrolizy. Stwierdzono również, że własności antyoksydacyjne ekstraktów z badanych wyłoków są skorelowane z zawartością w nich polifenoli. Ponieważ związki te, znane są z silnych własności przeciwbakteryjnych zbadano również wpływ ekstraktów z wyłoków z przed hydrolizy i po hydrolizie enzymatycznej na wzrost bakterii i drożdży. Wszystkie ekstrakty z wyłoków hamowały wzrost bakterii natomiast nie wpływały na wzrost drożdży *Candida albicans*.

W związku z moimi zainteresowaniami naukowymi dotyczącymi właściwości przeciwdrobnoustrojowych oraz biologicznej aktywności olejków eterycznych, zostałam zaproszona przez firmę Pollena Aroma Sp. Z o o. do wspólnych prac mających na celu opracowanie receptury kosmetyku przeznaczonego m.in. dla sektora medycznego i kosmetycznego, w którym istotna jest częsta dezynfekcja rąk przy jednoczesnym ich nawilżaniu. Większość preparatów do dezynfekcji rąk oparta jest na alkoholach, które wysuszają i podrażniają skórę rąk. W związku z tym, założyliśmy, że opracowywany preparat powinien zawierać w swoim składzie substancje przeciwdrobnoustrojowe pochodzenia roślinnego, a także związki natłuszczające i zapobiegające wysuszeniu skóry. Opatentowany i wdrożony preparat do pielęgnacji skóry rąk narażonych na częste mycie został oparty na olejkach eterycznych (drzewa herbacianego i/lub geraniowego i/lub lawendowego i/lub rozmarynowego i/lub rumianku rzymskiego), mineralnych i/lub roślinnych olejach natłuszczających oraz substancjach nawilżających (**patent 1**). Przeprowadzony szereg badań, m.in. określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych wyselekcjonowanych olejków eterycznych i ich mieszanin, testy konserwacji wytypowanych mieszanin olejków eterycznych, badania na probantach mające na celu sprawdzenie wpływu olejków eterycznych na mikroflorę skóry rąk oraz badania kliniczne wykonane na personelu medycznym. Uzyskane wyniki badań potwierdziły, że stworzony preparat posiada właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze, łagodzi podrażnienia i wysuszenie skóry. Ponadto,

dobrze się wchłania, skóra po jego zastosowaniu jest gładka, miękka i przyjemna w dotyku a zapach balsamu jest przyjemny, ziołowy.

W oparciu o posiadaną wiedzę i zebrane dane literaturowe sformułowałam także prace mające na celu naukowe potwierdzenie zasadności stosowania w kosmetykach surowców pochodzenia naturalnego tj. kofeina (naturalnie występująca w liściach krzewu herbacianego, nasionach kawy i kakaowca) (**publikacja 8**), miodu i produktów pszczelich (**publikacja 19**), biosurfaktantów (**publikacje 17 i 18**) jako związków aktywnych biologicznie, mogących wpłynąć na konkretne procesy biochemiczne zachodzące w skórze. W pracy poświęconej kofeinie, na podstawie zebranych danych literaturowych wykazałam, że alkaloid ten, posiada duży potencjał kosmetyczny, który zawdzięcza swojej zdolności do przenikania przez barierę naskórkową, wnikania w głębsze warstwy skóry i oddziaływania na procesy zachodzące na poziomie komórkowym (**publikacja 8**). Kofeina jest ważnym składnikiem preparatów stosowanych do zwalczania cellulitu, ponieważ w procesie lipolizy stymuluje rozkład triglicerydów do wolnych kwasów tłuszczowych i glicerolu. Antycelulitowe właściwości kofeiny mogą także wynikać z pobudzania przez nią mikrokrążenia krwi w naczyniach włosowatych oraz przyspieszania odpływu limfy z tkanki tłuszczowej usuwając w ten sposób toksyny i produkty uboczne procesów metabolicznych. Kofeina z powodzeniem może również być stosowana jako aktywny składnik kosmetyków stosowanych pod oczy, gdyż usprawnia krążenie krwi w naczyniach włosowatych powodując zmniejszenie obrzęków i opuchnięć a także w kosmetykach przeciwstarzeniowych i przeciwślonecznych wykorzystujących jej własności antyoksydacyjne. Celowe wydaje się także zastosowanie kofeiny w preparatach zapobiegających wypadaniu włosów i stymulujących wzrost nowych, ponieważ hamuje ona aktywność 5- α -reduktazy, enzymu przekształcającego testosteron w dihydrotestosteron odpowiedzialnego za łysienie androgenowe, stymuluje mikrokrążenie krwi w naczyniach włosowatych powodując, że do brodawki włosa trafiają składniki odżywcze przyspieszające wzrost włosów. Warto wspomnieć, że powyższa praca w roku 2013 znajdowała się na 2 miejscu w rankingu 10 najczęściej czytanych publikacji wydanych przez czasopismo *Skin Pharmacology and Physiology* a w związku z szerokim zainteresowaniem czytelników została również przetłumaczona na język niemiecki.

Kolejnymi produktami pochodzenia naturalnego, które znajdują zastosowanie w kosmetykach są miód i produkty pszczele (wosk, propolis, mleczko pszczele, pyłek kwiatowy) (**publikacja 19**). W pracy tej zebrano naukowe doniesienia wskazujące na znaczący potencjał tych produktów, jako surowców do produkcji kosmetyków. Ponieważ istnieją dowody naukowe, że miód i produkty pszczele posiadają właściwości

przeciwutleniające i hamujące rodnikowe reakcje utleniania, antybakteryjne i przeciwgrzybicze, normalizują pracę gruczołów łojowych, łagodzą podrażnienia i działają regeneracyjne na naskórek, opóźniają procesy starzenia, usprawniają mikrocyrkulację krwi oraz wpływają na wiele innych procesów biochemicznych zachodzących w skórze.

Kolejne dwie prace przeglądowe (**publikacje 17 i 18**) poświęciłam biosurfaktantom, czyli surfaktantom naturalnym, wytwarzanym przez mikroorganizmy (bakterie, drożdże, pleśnie). Związki te, charakteryzują się zdolnością do obniżania napięcia powierzchniowego oraz napięcia na granicy faz. Niska toksyczność biosurfaktantów, szybka biodegradowalność, wysoka biokompatybilność oraz zróżnicowane właściwości fizykochemiczne powodują, że są one wykorzystywane przez różne gałęzie przemysłu, m.in. przemysł kosmetyczny i farmaceutyczny. Biosurfaktanty posiadają silne właściwości antybakteryjne i nawilżające, przez co są stosowane do produkcji preparatów do cer problemowych (suchych i trądzikowych) oraz cer dojrzałych (działanie przeciwzmarszczkowe i anti-aging). Biorąc pod uwagę unikalne właściwości biosurfaktantów można przypuszczać, że w przyszłości staną się zamiennikami syntetycznych surfaktantów a ich światowa produkcja znacznie wzrośnie.

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie, zarówno naukowców jak i różnych gałęzi przemysłu nanocząstkami, które mogą być syntetyzowane na drodze chemicznej, ale również naturalnie przez rośliny i mikroorganizmy (**publikacja 9**). W wyniku przeprowadzonego przeze mnie studium literaturowego sformułowałam pracę przeglądową opisującą aktualny stan wiedzy dotyczącej nanocząstek w aspekcie ich potencjału przeciwdrobnoustrojowego z uwzględnieniem mechanizmów ich działania na komórki mikroorganizmów, toksykologii oraz ich szerokiego wykorzystania w medycynie.

Istotna część mojego dorobku naukowego obejmuje zagadnienia związane z neuroendokrynologią rozrodu. Od wielu lat jestem zaangażowana w badania naukowe prowadzone we współpracy z Zakładem Neuroendokrynologii oraz Laboratorium Biologii Molekularnej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN (IFŻZ PAN) w Jabłonie oraz Zakładem Neuroendokrynologii Klinicznej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, które w obu przypadkach trwają do chwili obecnej. Badania prowadzone we współpracy z Zakładem Neuroendokrynologii IFŻZ PAN dotyczyły dwóch obszarów. Pierwszy z nich dotyczył badań nad aktywnością biologiczną gonadoliberyny (GnRH) po jej skompleksowaniu z jonem miedzi (Cu-GnRH). GnRH to hormon wytwarzany przez podwzgórze, stymulujący wydzielanie gonadotropin (hormonu luteinizującego - LH i hormonu folikulotropowego - FSH) z przedniego płata przysadki mózgowej kluczowych dla rozrodu. Tworzenie analogów GnRH (agonistów i antagonistów) poprzez modyfikacje

struktury tej cząsteczki (w przypadku Cu-GnRH przyłączenie jonu miedzi do histydyny znajdującej się w pozycji 2 decapeptydu) ma na celu uzyskanie stabilnej cząsteczki odpornej na działanie enzymów proteolitycznych znajdujących się w podwzgórzu i przysadce mózgowej, co skutkuje wydłużeniem czasu jej rozkładu i daje możliwość przedłużonego pobudzenia receptora GnRH. Analogi GnRH są szeroko stosowane w leczeniu hormonozależnych zaburzeń układu rozrodczego, tj. przedwczesne dojrzewanie, endometriozy, nowotworów gonad, leczenia bezpłodności a także mogą być uznane jako środki antykoncepcyjne przeznaczone dla kobiet i mężczyzn. Celem przeprowadzanych przez nas badań było porównanie stabilności fizjologicznej cząsteczki GnRH oraz kompleksu GnRH z jonem miedzi pod wpływem działania endogennych enzymów proteolitycznych występujących w podwzgórzu i przysadce mózgowej szczura (**publikacja 2**). Badania te wykazały, że Cu-GnRH jest oporny na degradacyjne działanie enzymów proteolitycznych podwzgórza i przysadki mózgowej w porównaniu do GnRH. Jon miedzi związany z GnRH powoduje zmianę konformacji tej cząsteczki, w sposób, który utrudnia enzymom proteolitycznym dostęp do wiązań aminokwasowych w cząsteczce tego decapeptydu. Dlatego też, kompleks Cu-GnRH może być uznany za stabilny analog GnRH umożliwiający przedłużoną interakcję tej cząsteczki z receptorem GnRH na powierzchni komórek gonadotropowych.

Drugi obszar badań prowadzonych na współpracy z Zakładem Neuroendokrynologii i Laboratorium Biologii Molekularnej IFŹŻ PAN obejmował badania nad wpływem ostrego i przedłużonego stanu zapalnego na proces rozrodu na poziomie podwzgórza i przysadki mózgowej w modelu owczym. W ramach prowadzonych badań wykazano lokalną syntezę cytokiny prozapalnej - interleukiny 1β (IL- 1β) i ekspresję genów kodujących jej receptory w strukturach podwzgórza związanych z aktywnością GnRH-ergiczną w czasie stanu zapalnego wywołanego obwodowym podaniem endotoksyny bakteryjnej - lipopolisacharydu (LPS). Może to świadczyć o wiodącej roli tej cytokiny w indukowaniu zaburzeń sekrecji GnRH na poziomie podwzgórza (**publikacja 1**). W kolejnej pracy wykazano, że wywołanie stresu immunologicznego przez obwodowe podanie LPS stymuluje w podwzgórzu ekspresję genów kodujących receptor endotoksyny - TLR4 i białko Tollip - negatywny regulator transdukcji sygnału tego receptora, co pośrednio wskazuje na możliwość przenikania istotnych ilości endotoksyny bakteryjnej z krwi obwodowej do parenchymy mózgu (**publikacja 5**). Ponieważ receptory IL- 1β są obecne na powierzchni komórek przysadki, wskazało to na możliwość bezpośredniego wpływu tej cytokiny na sekrecję LH. W celu zweryfikowania powyższej hipotezy badawczej przeprowadzono eksperyment *ex vivo* na przysadkach pobranych od

owiec będących w fazie pęcherzykowej cyklu rujowego, znajdujących się w stanie fizjologicznym oraz w stanie ostrego stanu zapalnego wywołanego podaniem LPS, które następnie stymulowano IL-1 β (**publikacja 7**). Wyniki tego doświadczenia dowiodły, że prozapalna IL-1 β bierze udział w hamowaniu sekrecji GnRH/LH zarówno na poziomie przysadki jak i podwzgórza. Stwierdzono również, że przysadki owiec znajdujących się w stanie ostrego stresu immunologicznego charakteryzowały się zwiększoną ekspresją genu receptora IL-1 typu I, co wydaje się tłumaczyć zwiększoną reaktywność tych eksplantów na działanie IL-1 β . Ponadto sugeruje to, że stan zapalny wpływa na reaktywność komórek przysadki, nawet przez wiele godzin po zaniknięciu sygnału zapalnego. Uzyskane wyniki świadczące o istotnej roli IL-1 β w hamowaniu procesu rozrodu na poziomie ośrodkowego układu nerwowego w czasie stanu zapalnego, skłoniły nas do postawienia hipotezy zakładającej, że obniżenie syntezy IL-1 β w trakcie ostrego stanu zapalnego u owiec może zmniejszyć hamowanie sekrecji GnRH i LH. W ramach przeprowadzonych badań wykazano, że aktywacja cholinergicznego mechanizmu przeciwzapalnego za pomocą rywastygminy w trakcie ostrego stanu zapalnego zmniejsza syntezę prozapalnej IL-1 β w strukturach podwzgórza związanych z aktywnością GnRH-ergiczną (**publikacja 3**). Stwierdzono także, że aktywacja cholinergicznego mechanizmu przeciwzapalnego zmniejsza hamujący wpływ stanu zapalnego na sekrecję GnRH/LH (**publikacja 4**), co pośrednio potwierdziło, że IL-1 β jest istotnym elementem mechanizmu, poprzez który ostry stan zapalny oddziałuje na proces rozrodu na poziomie podwzgórza i przysadki mózgowej. Bazując na powyższych przesłankach, postanowiono sprawdzić, czy blokowanie syntezy cytokin prozapalnych, a w szczególności IL-1 β uwolni sekrecję GnRH/LH od hamującego oddziaływania przewlekłego stanu zapalnego. W tym celu farmakologicznie zablokowano aktywność kinazy p38 MAPK inhibitorem pirydynylo imidazolem (SB203580), co spowodowało istotne zmniejszenie syntezy cytokin prozapalnych w tym IL-1 β w podwzgorzu (**publikacja 12**). Jednak nie stwierdzono wpływu podania tego inhibitora na zahamowaną na skutek działania stanu zapalnego sekrecję GnRH/LH. Badania te zasugerowały nam, że w procesie hamowania rozrodu na poziomie ośrodkowego układu nerwowego w trakcie przedłużonego stanu zapalnego mogą być zaangażowane także inne mediatory zapalne. Dlatego w kolejnym doświadczeniu postanowiono sprawdzić, czy syntetyzowane w podwzgorzu prostaglandyny mogą być odpowiedzialne za hamowanie sekrecji GnRH/LH u owcy podczas przedłużonego stanu zapalnego (**publikacja 13**). W badaniach tych wykazano, że podanie COX-2 selektywnego inhibitora syntezy prostaglandyn - meloksykamu szybko i efektywnie przywraca sekrecję GnRH/LH do poziomu kontrolnego u osobników w stanie przewlekłego,

ale nie ostrego stanu zapalnego. Przeprowadzone przez nas badania wykazały również, że status immunologiczny organizmu może wpływać na odpowiedź sekrecyjną przysadki w wyniku działania na nią czynnikami nieimmunologicznymi, takimi jak kofeina. W doświadczeniu *ex vivo* stwierdzono, że ten alkaloid silniej stymuluje sekrecję LH z przysadek pobranych od zwierząt w stanie stresu immunologicznego, niż od osobników w stanie fizjologicznym (**publikacja 14**).

Natomiast, wspólnie z zespołem z Zakładu Neuroendokrynologii Klinicznej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie uczestniczyłam w badaniach nad mechanizmem działania walproinianu sodu (VPA) na komórki przedniej części przysadki mózgowej samic szczura stymulowanych i niestymulowanych GnRH (**publikacja 6**). VPA jest składnikiem leków przeciwdrgawkowych stosowanych np. podczas leczenia padaczki u ludzi. Jednym ze skutków ubocznych stosowania tego leku są zaburzenia płodności u ludzi, poprzez obniżoną syntezę hormonów gonadotropowych wytwarzanych przez przysadkę mózgową - LH i FSH. Mechanizm niekorzystnego działania VPA na układ rozrodczy człowieka, podobnie jak i u szczura, nie jest w pełni poznany i prawdopodobnie zależy zarówno od wpływu VPA na poziomie jajników i jąder, jak i na poziomie podwzgórza i przysadki mózgowej. Celem pracy było porównanie mechanizmów działania VPA na komórki przedniego płata przysadki mózgowej szczura stymulowanych i niestymulowanych GnRH. W obu badanych grupach, zaobserwowano spadek syntezy LH oraz wzrost syntezy fosfoinozytoli (IP) w komórkach przysadki mózgowej szczura *in vitro*. Wzrost ilości IP w komórkach gonadotropowych świadczy o tym, że VPA aktywuje ścieżkę sygnalizacji komórkowej opartej na kinazie białkowej C (PKC). Otrzymane wyniki badań mają charakter podstawowy i wymagają dalszych, bardziej szczegółowych badań, które są obecnie kontynuowane.

Anne Hermesz

02.02.2015

Podpis wnioskodawcy