

Rozprawa doktorska

**Wykorzystanie nowych technologii w recepturowaniu produktów
dermatologicznych zawierających surowce pszczele**

**The use of new technologies in formulating dermatological products
containing bee-derived raw materials**

Mgr farm. Grzegorz Suwiński

Praca przedstawiona Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii
Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu celem uzyskania stopnia naukowego doktora
nauk chemicznych

Promotor: prof. dr hab. Izabela Nowak

Opiekun z ramienia Przedsiębiorstwa Farmaceutycznego Farmapol

Sp. z o. o., w którym realizowany był doktorat wdrożeniowy: dr Małgorzata Mroczkowska

Poznań 2024

Składam serdeczne podziękowania

Prezesom Przedsiębiorstwa Farmaceutycznego Farmapol Sp. z o. o.,
Pani Małgorzacie Mroczkowskiej i Panu Wojciechowi Kęsy
za nieustanne wsparcie, życzliwość oraz za umożliwienie mi
realizacji doktoratu wdrożeniowego,

Pani Promotor, **Prof. dr hab. Izabeli Nowak** za serdeczne
podejście, nieocenione wsparcie merytoryczne oraz za pomoc
w badaniach i publikowaniu wyników prac,

Kolegom i koleżankom z pracy za wspólne wysiłki podczas
wdrażania wyników prac badawczych,

Mojej żonie Agacie za ogromne wsparcie podczas realizacji
doktoratu, za wyrozumiałość i podtrzymywanie mnie na duchu.

SPIS TREŚCI

1.	Streszczenie w języku polskim	5
2.	Streszczenie w języku angielskim	7
3.	Dorobek naukowy	9
4.	Przewodnik po publikacjach stanowiących rozprawę doktorską	11
4.1.	Wykaz skrótów i definicji stosowanych w rozprawie	11
4.2.	Wstęp teoretyczny	12
4.3.	Cel pracy	18
4.4.	Omówienie wyników badań	20
4.5.	Wdrożenie w przedsiębiorstwie	39
4.6.	Podsumowanie	45
5.	Bibliografia	47
6.	Kopie publikacji naukowych wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej i oświadczenia autorów tych prac	52

1. Streszczenie w języku polskim

Stosowanie surowców pszczelich (gat. *Apis Mellifera*) w leczeniu chorób i pielęgnacji skóry ma wielotysiącletnią tradycję. Doniesienia o wykorzystaniu miodu w zaopatrywaniu ran sięgają starożytności. W czasach nowożytnych podejście do produktów kosmetycznych i leczniczych uległo znacznym zmianom, obejmując zarówno regulacje prawne dotyczące bezpieczeństwa ich stosowania, jak i rozwój medycyny opartej na dowodach naukowych. Pomimo zmian w wiedzy i podejściu do produktów dermatologicznych, surowce pszczele nadal budzą duże zainteresowanie badaczy. Eksperymenty obejmują m.in. analizę składu chemicznego miodów z różnych roślin, propolisu z różnych regionów świata, ich aktywności farmakologicznej, a także sposobów wprowadzenia tych surowców do produktów przeznaczonych do aplikacji na skórę. Badania nad technologiami formułacji leków i kosmetyków wykorzystują chemiczne właściwości mieszanin do sterowania ich cechami fizykochemicznymi, aplikacyjnymi oraz biodostępnością substancji czynnej.

W niniejszej pracy opracowano, scharakteryzowano i skomercjalizowano nowe technologie nośników zawierających surowce pszczele: organożel z 90% w/w ekstraktu z propolisu oraz krem typu olej w wodzie z 5-15% w/w miodu. Cykl trzech publikacji naukowych niniejszej rozprawy opisuje kolejne etapy prac nad najlepiej rokującymi technologiami, stworzonymi w celu poprawy efektywności stosowania produktów zawierających surowce pszczele. Ostatnim etapem przedmiotowych badań było technologiczne wdrożenie dwóch produktów w przedsiębiorstwie farmaceutycznym.

- Prace badawcze opublikowane w ramach niniejszej rozprawy obejmują kolejno:
- P1 [Przem. Chem., 2021, 100.6, 600-605] przegląd publikacji związanych z badaniami technologii nośników wykorzystujących propolis lub jego przetworzoną postać. Publikacje zostały pogrupowane i opisane. Przegląd, wraz z przykładami charakterystyki poszczególnych technologii, miał na celu ułatwienie doboru nośnika przeznaczonego do wytworzenia nowego produktu zawierającego trudno rozpuszczalną substancję aktywną – propolis.
 - PAT1 [WUP UPRP 2022, 43, 5] patent opisujący sposób przygotowania technologii organożelu krzemionkowego umożliwiającego inkorporację wysokiej zawartości (>90% wag.) propolisu.
 - P2 [Materials 2025, 18, 266] publikację eksperymentalną charakteryzującą przedstawiony w patencie organożel krzemionkowy. Charakterystyka obejmowała

badania struktury, reologii, stabilności, uwalniania substancji aktywnej oraz charakterystyki aplikacyjnej. Organożel składający się głównie z glikolu propylenowego i krzemionki wykazał wysoką stabilność fizyczną oraz termiczną – co jest nietypowe dla grupy technologicznej organożeli. Kolejną cechą odróżniającą badaną technologię od popularnych w medycynie organożeli była częściowa lub całkowita transparentność masy, a także nietypowa zmiana profilu reologicznego pod wpływem wodnego roztworu zasady. Organożel krzemionkowy, zawierający 10% (w/w) ibuprofenu, wykazał profil uwalniania charakteryzujący się 80%-owym uwolnieniem tej substancji aktywnej w ciągu 1 doby.

- P3 [Pharmaceuticals, 2024, 17, 1709] publikację eksperymentalną opisującą badania wpływu stężenia miodu (0-15% w/w) w kremie O/W z zawartością 2-metylo-1,3-propanodiolu na parametry aplikacyjne i biofizyczne skóry. Badania uwzględniały kwestionariusze wypełniane przez ochotników, a także badania poziomu nawilżenia skóry, przeznaskórkowej utraty wody, poziomu elastyczności skóry, jej gładkości, powierzchni zmarszczek i średniej głębokości zmarszczek. Badania wykazały brak istotnych statystycznie różnic w ocenie aplikacyjnej poszczególnych kremów. Różnice odnotowano natomiast w przypadku pomiarów poziomu nawilżenia skóry oraz głębokości zmarszczek. Biorąc pod uwagę porównanie kremów zawierających miód do kremu placebo, eksperyment udowodnił korzystny wpływ miodu zawartego w formulacji na poprawę parametrów skóry.

2. Streszczenie w języku angielskim

The use of bee-derived raw materials (*Apis mellifera* species) in treating diseases and skin care has a tradition spanning thousands of years. Reports on the use of honey for wound care dates back to antiquity. In modern times, approaches to cosmetic and medicinal products have changed significantly, including legal regulations regarding their safety and the development of evidence-based medicine. Despite advancements in knowledge and strategies to dermatological products, bee-derived raw materials continue to attract significant interest from researchers. Experiments focus on, among other things, the chemical composition of honey from various plants, propolis from different regions of the world, their pharmacological activity, and methods of incorporating these raw materials into products intended for skin application. Research into drug and cosmetic formulation technologies utilizes the chemical properties of mixtures to control their physicochemical characteristics, application properties, and the bioavailability of the active ingredient.

In this work, new carrier technologies containing bee-derived raw materials were developed, characterized, and commercialized: an organogel with 90% w/w propolis extract and an oil-in-water cream with 5-15% w/w honey. The cycle of three scientific publications in this dissertation describes subsequent stages of work on the most promising technologies, created to improve the efficacy of products containing bee-derived raw materials. The final stage of the research was the technological implementation of two products in a pharmaceutical company.

The research published in this dissertation includes:

- P1 [Przem. Chem., 2021, 100.6, 600-605] a review of publications related to carrier technologies using propolis or its processed form. The publications were grouped and described. The review, along with examples of the characteristics of individual technologies, aimed to facilitate the selection of a carrier intended for the production of a new product containing a poorly soluble active substance – propolis.
- PAT1 [WUP UPRP 2022, 43, 5] a patent describing a method for preparing silica-based organogel technology enabling the incorporation of a high content (>90% w/w) of propolis.
- P2 [Materials 2025, 18, 266] an experimental publication characterizing the silica-based organogel presented in the patent. The characterization included studies of structure, rheology, stability, active substance release, and application properties. The organogel,

consisting mainly of propylene glycol and silica, showed high physical and thermal stability, which is atypical for the organogel technology group. Another distinguishing feature of the studied technology compared to those commonly used in medicine was the partial or complete transparency of the gel, as well as an unusual change in the rheological profile when exposed to an aqueous alkali solution. The silica-based organogel, containing 10 wt. % ibuprofen, demonstrated a 80% release of the active substance into the solution within 24 hours.

- P3 [Pharmaceuticals, 2024, 17, 1709]an experimental publication describing studies on the impact of honey concentration (0-15% w/w) in an O/W cream containing 2-methyl-1,3-propanediol on the application properties and skin parameters. The studies included questionnaires completed by participants, as well as measurements of skin hydration, transepidermal water loss, skin elasticity, smoothness, wrinkle surface, and average wrinkle depth. The studies showed no statistically significant differences in the application assessment of the individual creams. Differences, however, were observed in the measurements of skin hydration levels and wrinkle depth. When comparing creams containing honey to the placebo cream, the experiment demonstrated the beneficial effect of honey in the formulation on improving skin parameters.

3. Dorobek naukowy

mgr farm. Grzegorz Suwiński

Publikacje naukowe

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Innovative Honey-Based Product and Its Beneficial Effects Measured by Modern Biophysical and Imaging Skin Techniques”, *Pharmaceuticals*, 2024, 17, 1709. IF=4,3; punkty MNiSW=100

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Stability and Rheological Properties of the Novel Silica-Based Organogel—A Drug Carrier with High Solubilization Potential”, *Materials*, 2025, 18, 266. IF=3,1; punkty MNiSW=140

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Tradycyjne i nowatorskie technologie systemów dostarczania leku dla substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie: studium przypadku na przykładzie propolisu”, *Przem. Chem.*, 2021, 100(6), 600-605. IF=0,3; punkty MNiSW=70

Joanna Fedorowicz, Jarosław Sączewski, Zuzanna Drażba, Paulina Wiśniewska, Maria Gdaniec, Barbara Wicher, **Grzegorz Suwiński**, Aleksandra Jalińska, „*Synthesis and fluorescence of dihydro-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-2-ium-carboxylates: An experimental and TD-DFT comparative study*”, *Dyes and Pigments*, 2019, 161, 347-359. IF=4,613, punkty MNiSW = 100.

Patenty

Grzegorz Suwiński, Patent nr 241552 "*Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny*", WUP UPRP, 2022, 43, 5.

Konferencje międzynarodowe

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „*Enforced syneresis measurement as a stability predictor for a drug or cosmetic formulation: a propolis organogel case study*”, 8th Polish-Kazakh Meeting: relationship between chemistry and biology, 2022r. on-line, wystąpienie ustne.

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „*Propolis in a lipophilic system – a viscosity based dispersion as a formulation method*”, 7th Polish-Kazakh Meeting: relationship between chemistry and biology, 2021r. on-line, wystąpienie ustne.

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „*Use of bee raw materials in cosmetics formulations*”, 6th Polish-Kazakh Meeting: relationship between chemistry and biology, 2020r. on-line, wystąpienie ustne.

Konferencje krajowe

Grzegorz Suwiński, „*Tradycja i perspektywa dla surowców pszczelich w kontekście produktów na rynku kosmetycznym*”, XI Forum branży kosmetycznej, 2023r., Ożarów Mazowiecki, wystąpienie ustne.

4. Przewodnik po publikacjach stanowiących rozprawę doktorską

4.1. Wykaz skrótów i definicji stosowanych w rozprawie

CFU – Colony Forming Unit – ilość jednostek mikroorganizmów zdolnych do stworzenia kolonii tego mikroorganizmu.

Emulsja lub krem O/W – emulsja charakteryzująca się wewnętrzną fazą olejową (lipofilową) oraz zewnętrzną fazą wodną (hydrofilową)

Emulsja lub krem W/O – emulsja charakteryzująca się wewnętrzną fazą wodną (hydrofilową) oraz zewnętrzną fazą olejową (lipofilową)

Krzemionka koloidalna – w badaniach wykorzystywano krzemionkę koloidalną o nazwie handlowej CAB-O-SIL M-5 (produkcji Cabot Corporation) i powierzchni 175 - 225 m²/g

LO – Lecithin Organogel – organożel, w którym żelator stanowi strukturalna sieć międzyfazowa zbudowana z lecytyny

MBC – Minimal Bactericidal Concentration – minimalne stężenie substancji aktywnej, doprowadzające do śmierci 99,9% CFU w 1 ml

Metylpropanediol - 2-metylo-1,3-propanodiol

MIC – Minimal Inhibitory Concentration – minimalne stężenie substancji aktywnej, doprowadzające do zatrzymania rozwoju i podziału mikroorganizmu

Organożel krzemionkowy – organożel, w którym żelator stanowi krzemionka koloidalna

PEE (lub EEP) – Propolis Ethanol Extract – ekstrakt etanolowy z propolisu; jeżeli nie podano inaczej, najczęściej dotyczy stężenia 10% wag/wag

PEG 400 – glikol polietylenowy o masie molowej ~400g/mol

PG – propylene glycol – glikol propylenowy

PLO – Pluronic-Lecithin Organogel – organożel, w którym żelator stanowi strukturalna sieć międzyfazowa zbudowana z lecytyny i roztworu poloksameru 470

Synereza – zjawisko związane z niestabilnością masy, objawiające się oddzielaniem frakcji ciekłej od frakcji stałej. *Wymuszona synereza* to zjawisko indukowane siłą działającą na masę (np. ciężar, siła odśrodkowa itd.)

TEWL – Transepidermal water loss – przeznaskórkowa utrata wody, wyrażona w g/m²/h

4.2. Wstęp teoretyczny

Nowe technologie maści leczniczych – jak to wyglądało w przeszłości?

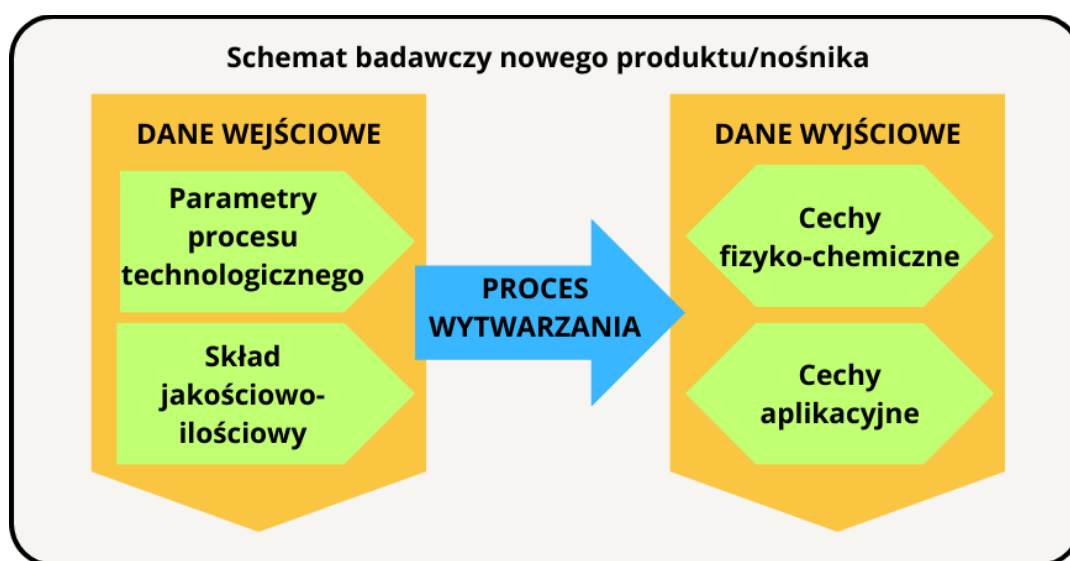
Technologia postaci produktów dermatologicznych (leku, kosmetyku) jest dynamicznie ewoluującą dziedziną. Wzmianki o przygotowywaniu maści i opatrunków aplikowanych miejscowo na skórę sięgają medycyny starożytnych Egipcjan, Babilończyków i Chińczyków, z lat 2000–3000 p.n.e. Wówczas jako postać produktu podawanego miejscowo na skórę stanowiły samodzielne substancje uznawane w ówczesnej medycynie za lecznicze - na przykład miód, mleko, oleje roślinne (oliwa, olej sezamowy), sól kamienna, glinki, wyciągi roślinne¹⁾. Jednym z kamieni milowych w rozwoju preparatów dermatologicznych były receptury opisane przez greckiego lekarza i farmaceutę Galena. Medyk z powodzeniem wykorzystywał substancje, które służyły do modyfikowania właściwości fizykochemicznych substancji aktywnej. Na przykład, alkohole pomagały w ekstrakcji surowców roślinnych, żywice doskonale nadawały się jako klej do opatrunków leczniczych, a tłuszcz zwierzęcy miał zdolność zawieszenia i rozcieńczenia substancji aktywnej w celu łatwiejszego i bezpieczniejszego podania jej na skórę pacjenta²⁾. Przełom XIX i XX wieku był początkiem rozwoju wytwarzania makroemulsji W/O (woda w oleju) i O/W (olej w wodzie), które stanowią obecnie, obok receptur hydrożeli, najczęściej wykorzystywane podłoża produktów leczniczych do użytku zewnętrznego oraz produktów kosmetycznych³⁾. Dalszy rozkwit technologii produktów dermatologicznych w XX wieku miał charakter wielotorowy. Ekspansja nauk farmaceutycznych, w szczególności farmakokinetyki i farmakodynamiki, przyczyniła się do zrozumienia wpływu substancji czynnej i towarzyszącego jej podłoża (nośnika) na biodostępność i efekt terapeutyczny leku. Jednocześnie rozwój i pojawianie się wielu nowych substancji aktywnych stworzyło potrzebę poszerzania wachlarza technologii nośników dla cząsteczek aktywnych (na przykład poprawiających rozpuszczalność substancji lub ich penetrację do miejsca działania)⁴⁾. Konsekwencją tego zapotrzebowania był rozwój metod badawczych służących do określania cech nośników (np. badania mikroskopowe, potencjału zeta, charakterystyki reologicznej), a także pojawianie się wielu nowych substancji pomocniczych, wspierających postęp technologii (np. emulgatory do tworzenia emulsji ciekłokrystalicznych).

Efektem przedstawionego wyżej rysu historycznego technologii postaci leku i kosmetyku są bardzo szerokie możliwości tworzenia i charakteryzowania zupełnie

nowych nośników służących do uwalniania substancji aktywnych farmakologicznie. Obecnie zaawansowane technologie obejmują struktury takie jak: technologie pęcherzykowe, mikroemulsje, nanonośniki, organożele, które charakteryzują się udoskonalonymi atrybutami względem technologii klasycznych: makroemulsji O/W i W/O, hydrożeli, oleożeli, proszków⁵⁻⁸). Najczęściej usprawnienia związane są z aspektami biodostępności substancji aktywnej. Począwszy od umieszczenia dostatecznie wysokiego stężenia substancji aktywnej w nośniku (właściwość szczególnie istotna dla substancji trudno rozpuszczalnych), przez sposób uwalniania z postaci leku/kosmetyku (np. systemy transdermalne), na penetracji przez błony komórkowe kończąc (np. liposomy). Z drugiej strony ewolucja technologii wytwarzania może dotyczyć także poprawy parametrów sensorycznych i tym samym atrakcyjności aplikacyjnej produktu, co jest szczególnie ważne dla rozwoju produktów kosmetycznych⁹). Na tym etapie kluczowe staje się pytanie, jak może wyglądać konstrukcja i badanie nowych technologii.

„Potrzeba matką wynalazków”

Znaczna ilość parametrów wejściowych i wyjściowych podczas opracowywania nowych produktów dermatologicznych sprawia, że jest to dziedzina nadzwyczaj atrakcyjna dla badaczy. Eksperyment badawczy przygotowywany na poczet stworzenia nowej lub udoskonalenia istniejącej już technologii wytwarzania produktu do użytku zewnętrznego można przedstawić za pomocą następującego schematu (Rysunek 1):



Rysunek 1 Schemat ilustrujący proces badań nad nową technologią wytwarzania produktów dermatologicznych (własna koncepcja).

Gdzie każdy produkt końcowy lub sam nośnik (nie zawierający substancji aktywnej) można opisać zbiorem danych:

- a) wejściowych, zawierających zmienne niezależne i zmienne kontrolne, na które składają się:
 - parametry procesu technologicznego w przyjętej dla eksperymentu skali wytwarzania, przykładowo czas homogenizacji, czas pęcznienia polimeru, prędkość rotora homogenizującego, temperatura wylewania itd.
 - skład jakościowo-ilościowy, ujęty w sposób precyzyjny, uwzględniający specyfikacje użytych w recepturze surowców.
- b) wyjściowych, uwzględniających pożądane w eksperymencie zmienne zależne, na które mogą składać się:
 - cechy fizyko-chemiczne, przykładowo: lepkość, indeks polidispersji, stabilność termiczna i długoterminowa, obrazowanie struktur skaningowym mikroskopem elektronowym itd.
 - cechy aplikacyjne w kontekście oddziaływania preparatu na skórę (ludzką lub zwierzęcą), w szczególności badanie alergii kontaktowej, penetracji substancji aktywnej w głąb skóry, badanie poziomu nawilżenia skóry, badanie odczuć sensorycznych ocenianych za pomocą kwestionariuszy itd.

Po precyzyjnym określeniu celu eksperymentu (np. uzyskanie stabilnego fizycznie produktu zawierającego minimum 50% w/w ekstraktu z propolisu), badacz może skorzystać z już istniejących technologii i dokonać modyfikacji co najmniej jednej danej wejściowej (kontrolnej) lub podjąć próbę utworzenia zupełnie nowej technologii, która hipotetycznie może odznaczać się pożądanymi cechami (dane wyjściowe, zależne). Drugim aspektem eksperymentu jest prawidłowy dobór technik i metod pomiaru danych wyjściowych.

Badania opisane w niniejszej pracy uwzględniały wykorzystanie nowych technologii na poczet wytwarzania produktów zawierających surowce pszczele. Dlatego warto bliżej przyjrzeć się specyficznym cechom tych składników.

Surowce pszczele – potencjał i wyzwania

Wiele substancji czynnych znalazło już swoje odzwierciedlenie w cenionych na rynku aptecznym produktach. Mimo tego, nadal istnieją nisze technologiczne, które nie zostały jeszcze w pełni wykorzystane lub przebadane. W tym miejscu trafnym

może być przywołanie przypadku surowców pszczelich stanowiących przedmiot niniejszej pracy. Przykładowo, badacz w obliczu stworzenia produktu przeznaczonego do kontaktu z błonami śluzowymi, a zawierającego wysokie stężenie propolisu, ma do dyspozycji ograniczony zasób odpowiednich do tego celu technologii wytwarzania. Jest to związane głównie z tym, że propolis, będący substancją żywiczną, charakteryzuje się właściwościami hydro- i lipofobowymi¹⁰⁾. Ponadto sam nośnik musiałby wykazywać właściwości mukoadhezyjne, np. zawierać polimer zdolny do tworzenia wiązań wodorowych z błoną śluzową, co dodatkowo komplikuje zadanie¹¹⁾. Za inny przykład może posłużyć miód, który charakteryzuje się wysoką zawartością cukrów prostych, a także niską temperaturą zeszklenia, wywołująca odczuwalny efekt klejenia^{12, 13)}. W obliczu takich cech miodu jako substancji aktywnej, stworzenie atrakcyjnej sensorycznie formuły produktu kosmetycznego zawierającego wysokie stężenie miodu, na przykład >10% w/w może stanowić niemałe wyzwanie. Opisane cechy surowców pszczelich były inspiracją do zaprojektowania badań, które stanowią podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej. Aby uzupełnić teoretyczne podstawy pracy, warto przyjrzeć się wyjątkowym właściwościom tych surowców, które nadają im wysoką wartość zarówno z biznesowego, jak i naukowego punktu widzenia.

Pszczele złoto – jakie właściwości sprawiły, że miód porównano do cennego kruszcu?

Pszczoła miodna (*Apis Mellifera*) jest najczęstszym gościem roślin kwiatowych, odpowiadając średnio za 13% wizyt w kielichach kwiatów. Będąc także najczęstszym wizytatorem monokultur rolniczych, pszczoła miodna jest najbardziej rozpoznawalnym i cenionym przez ludzką zapylaczem¹⁴⁾. Równie imponujące są zdolności pszczół do wytwarzania produktów wykorzystywanych przez ludzi do celów spożywczych, pielęgnacyjnych i leczniczych. Wykorzystywanymi przez ludzi surowcami są: miód, propolis (kit pszczeli), pyłek pszczeli, mleczko pszczele, воск pszczeli i jad pszczeli (Rysunek 2).



Rysunek 2 Surowce pszczele wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym. (własna koncepcja).

Pierwsze wzmianki o leczeniu za pomocą surowców pszczelich (api-terapii) pochodzą z czasów starożytnego Egiptu, sięgających nawet 5000 r. p.n.e. Wówczas znane było zaopatrywanie ran miodem¹⁵⁾. Można więc uznać surowce pszczele za jedne z najstarszych, wykorzystywanych przez ludzi substancji aktywnych. Surowce te wzbudzają zainteresowanie badaczy do dni dzisiejszego, dlatego o skutecznym wykorzystywaniu miodu (np. miodu manuka) w terapii ran przeczytać można także w bieżących eksperymentach¹⁶⁾. Na uwagę zasługuje fakt, że oprócz poszukiwań miodu najefektywniejszego w terapii ran, równolegle prowadzone są badania nad nowymi technologiami wspomagającymi działanie tej substancji aktywnej. Przykładem może być miód inkorporowany do zróżnicowanych struktur nanocząstek w celu spotęgowania działania przeciwbakteryjnego z jednoczesnym przyspieszeniem regeneracji tkanek w miejscu zranienia¹⁷⁾.

Proces wytwarzania nowej postaci produktu dermatologicznego musi uwzględniać w szczególności mechanizm działania i cechy substancji aktywnej. Przykładowo, technologia wymagająca procesowania substancji aktywnej w wysokiej temperaturze, np. 70-75 °C, wykluczy wartość zastosowania tej technologii dla wszelkich substancji termolabilnych. Warto zatem przyjrzeć się mechanizmom działania miodu pszczelego. Odpowiedź na to pytanie jest ściśle powiązana z chemiczną kompozycją miodu. Skład tego surowca zależy przede wszystkim od regionu i źródła, czyli roślin miododajnych, z których pszczoły pozyskują nektar. Najważniejszymi składnikami miodu są cukry proste: fruktoza i glukoza, stanowiące zwykle około 75% masy miodu

i ponad 90% jego suchej masy^{18,19}). Tak wysokie stężenie rozpuszczonych cukrów wytwarza środowisko o wysokim ciśnieniu osmotycznym, co w połączeniu z niskim pH miodu, wynikającym z zawartości kwasów organicznych, tworzy środowisko niekorzystne dla drobnoustrojów. Uważa się jednocześnie, że największy wpływ na działanie bakteriobójcze miodu ma nadtlenek wodoru wytwarzany przez enzym - oksydazę glukozy²⁰). Inną ważną właściwością miodu, ściśle związaną z wysoką zawartością glukozy i fruktozy jest działanie nawilżające skórę, co wywołane jest zdolnością cukrów do wiązania wody poprzez wiązania wodorowe²¹). Wspierający wpływ na kondycję skóry mają także zawarte w miodzie aminokwasy i związki mineralne. Ostatecznie to jednak związki fenolowe, o silnych właściwościach redukujących, uznawane są za najcenniejszą grupę związków wspomagających pielęgnację skóry. Ich obecność definiuje działanie przeciwzapalne, regenerujące, a także ochronne w stosunku do DNA. Jednym z popularnych badań wykorzystywanych w celu zbadania zdolności przeciwdrobnoustrojowej miodu jest analiza spektrofotometryczna z wykorzystaniem stabilnych rodników DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl)²²).

Kolejnym surowcem pszczelim, który stał się przedmiotem niniejszej pracy jest propolis, czyli kit pszczeli. Swoje zastosowanie w dermatologii zawdzięcza bardzo silnym właściwościom przeciwzapalnym²³), przeciwwirusowym²⁴), przeciwgrzybiczym²⁵), przeciwbakteryjnym²⁶) i przeciw pasożytniczym²⁷). Szerokie spektrum aktywności przeciwko licznym szczepom patogennych mikroorganizmów sprawia, że propolis może stanowić jedną z najbardziej uniwersalnych substancji wykorzystywanych w dermatologii²⁸). Co więcej, propolis i jego przetworzone formy nie wzbudzają obaw pod względem badań toksykologicznych²⁹), dlatego produkty zawierające ten surowiec dostępne są bez recepty. Z punktu widzenia chemizmu, oczyszczony/wyekstrahowany propolis jest skoncentrowaną mieszaniną flawonoidów, terpenoidów i związków fenolowych, których dokładna kompozycja może różnić się w zależności od regionu geograficznego oraz roślin wizytowanych przez pszczoły³⁰). Wszystkie wymienione grupy substancji są trudno rozpuszczalne w wodzie, przy czym frakcja kwasów fenolowych ma zdolność rozpuszczenia w roztworze wodnym o wysokim pH z uwagi na obecność grup karboksylowych. Pomimo, że propolis może być ekstrahowany różnymi rozpuszczalnikami, w tym wodą i olejami naturalnymi, to ekstrakt etanolowy z propolisu jest najczęściej wybierany jako substrat dla produktu końcowego. Wynika to przede wszystkim z faktu, że etanol oraz inne rozpuszczalniki

organiczne są w stanie skutecznie ekstrahować frakcję żywiczną, która ma największy wpływ na działanie przeciwdrobnoustrojowe kitu pszczelego^{31,32}).

Na przedmiot eksperymentów skompletowanych w niniejszej pracy wybrano miód i propolis, jako surowce pszczele najbardziej pożądane z punktu widzenia komercjalizacji wyników efektów pracy.

4.3. CEL PRACY

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było **stworzenie, scharakteryzowanie i skomercjalizowanie** nowych technologii wytwarzania produktów dermatologicznych zawierających wybrane surowce pszczele. Przedmiotowe technologie pod względem konstrukcji danych wejściowych (składu i procesu wytwarzania) ukierunkowane były na zredukowanie wpływu negatywnych cech surowców pszczelich na produkt końcowy, w szczególności:

- **bardzo słabej rozpuszczalności propolisu**, na potrzeby stworzenia żelu o wysokiej zawartości propolisu (>80% w/w) w technologii żelu. Postać żelu o wysokiej lepkości ułatwiłaby aplikację i wielogodzinne utrzymywanie się preparatu na skórze, natomiast bardzo wysokie stężenie miałoby poprawiać efektywność produktu w leczeniu schorzeń związanych z chorobami zakaźnymi skóry, np. opryszczką, trądzikiem, grzybicą paznokci^{33,34}).

- **odczucia klejącej tekstury miodu**, na potrzeby uzyskania sensorycznie przyjemnego produktu kosmetycznego o wysokiej zawartości (0-15% w/w) tego surowca³⁵).

Natomiast w kontekście danych wyjściowych, opisujących charakterystykę produktu końcowego, eksperymenty kontrolne miały doprowadzić do następujących wyników:

- uzyskanie **maksymalnej stabilności fizycznej** (badania długoterminowe i wahadłowe w komorze klimatycznej³⁶), badania zjawiska synerezy³⁷) i **termicznej** (wpływu wysokiej temperatury, 70°C) nośnika zawierającego ekstrakt propolisowy. Wyjaśnieniem jest potrzeba zapewnienia długoterminowej niewrażliwości skomercjalizowanego produktu końcowego na warunki przechowywania i użytkowania. Jest to jednocześnie jedna z najważniejszych cech warunkujących użyteczność nowo odkrytej technologii,

- wyznaczenia **preferencyjnego, optymalnego stężenia miodu (0-15% w/w) w kontekście cech aplikacyjnych, badanych przy użyciu kwestionariuszy i aparaturowo: kutometrem, korneometrem, tewametrem i kamerami wysokorozdzielczymi**³⁸). Są to badania odpowiednio, pozwalające na ocenę odczuć

sensorycznych indywidualnych użytkowników, a także na ocenę parametrów skóry: nawilżenia, elastyczności, barierowości, wielkości zmarszczek. Celem było ustalenie, czy istnieje zasadność umieszczenia miodu wielokwiatowego w produktach kosmetycznych oraz jakie jego stężenie jest optymalne w kontekście cech pozytywnych i negatywnych. Metody badań kontrolnych eksperymentu zostały dobrane tak, aby wytworzone produkty końcowe udało się scharakteryzować, opisać i porównać do innych technologii lub produktów przedstawionych w literaturze naukowej – szczegóły badań zostaną zaprezentowane w punkcie 4.3 niniejszej rozprawy.

Ostatnim celem była komercjalizacja wyników prac, poprzez przeprowadzenie prób wytwarzania i konfekcji w przedsiębiorstwie farmaceutycznym – szczegóły dotyczące wdrożenia zostaną przedstawione w punkcie 4.4. niniejszej rozprawy.

Cel pracy został obrany z następujących powodów:

- a) dostępna wiedza naukowa nie pozwalała na bezpośrednie wskazanie rozwiązania wyżej wymienionych problemów badawczych. Technologie opisujące inkorporację propolisu w nośniku zazwyczaj były złożone i trudne do komercjalizacji. Z kolei ilość danych związanych z wykorzystaniem miodu w recepturach kosmetycznych oraz efektach aplikacyjnych takich formuł okazała się niewystarczająca. Badania niniejszej pracy miały poszerzać wiedzę na temat receptur zawierających surowce pszczele.
- b) charakter wdrożeniowy niniejszej pracy (w ramach projektu doktorat wdrożeniowy) miał połączyć elementy warsztatu pracy badawczej z komercjalizacją efektów badań. W takim przypadku wykorzystanie nowych technologii ujętych w patentach nie byłoby możliwe z uwagi na prawo patentowe.
- c) w czasopiśmie naukowych sfera związana z procesami formulacyjnymi i technologicznymi (sekcja „Materials and Methods”) zazwyczaj uwzględnia informacje o niskim stopniu szczegółowości, co utrudnia próby odtworzenia, a w szczególności skalowania eksperymentu.

Założonym efektem prac badawczych miała być prezentacja nowej technologii organożelu przeznaczonego do inkorporowania dowolnej substancji trudno rozpuszczalnej w wodzie, a także poszerzenie dostępnych informacji eksperymentalnych na temat znaczenia stężenia miodu w formulacjach kosmetycznych w kontekście ich wpływu na mierzalne parametry skóry.

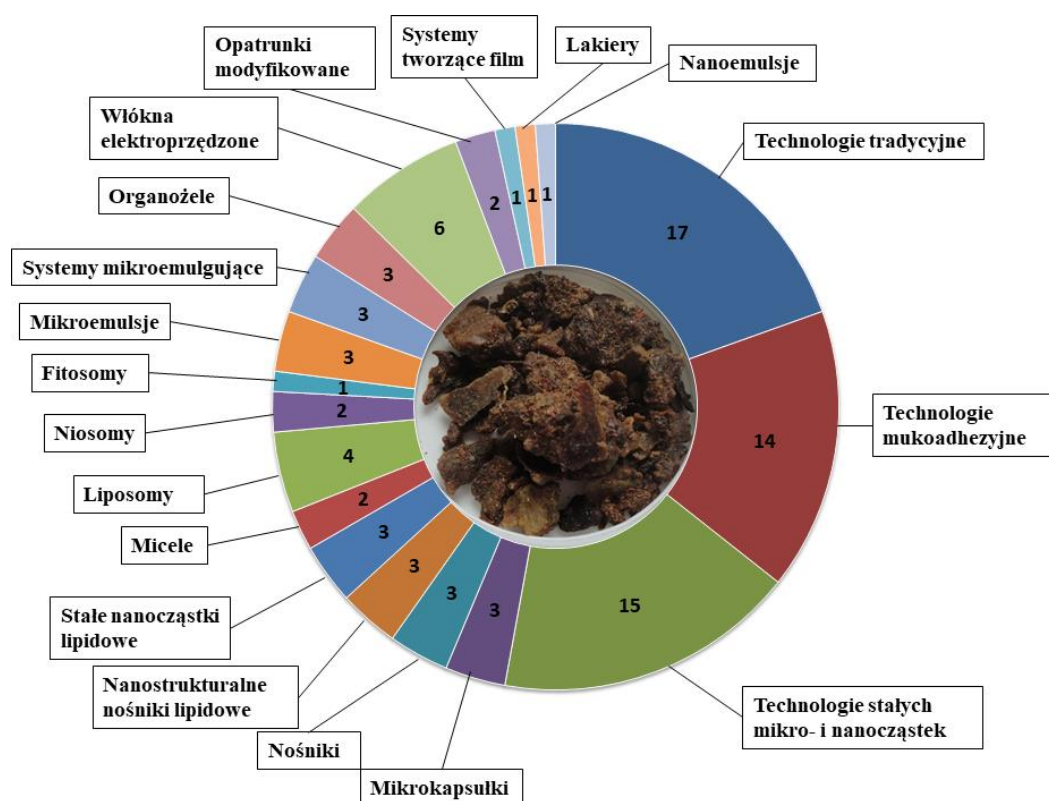
Efekty badań prezentowanych w niniejszej rozprawie mogą przynieść korzyści, w szczególności w obszarach:

- chemii stosowanej i technologii postaci leku – dzięki poszerzeniu wiedzy na temat dotychczas stosunkowo mało poznanej technologii organożeli krzemionkowych, dając tym samym możliwość technologom tworzenia produktów (np. leków i kosmetyków) o nowym wachlarzu cech.
- dermatologii – dzięki poszerzeniu wiedzy na temat właściwości aplikacyjnych miodu oraz jego stężenia – w celu doboru efektywnej kosztowo kuracji skóry suchej i dojrzałej.

4.4. Omówienie wyników badań

P1 - G. Suwiński, I. Nowak, "Traditional and innovative technologies of drug delivery systems for poorly water-soluble substance. Case study on an example of propolis.", *Przem. Chem.*, 2021, 100.6, 600-605.

Najważniejszym i jednocześnie najbardziej złożonym problemem badawczym niniejszej pracy było opracowanie technologii umożliwiającej inkorporację możliwie jak największej ilości propolisu do postaci żelu. Tak wysokie stężenie tej substancji mogłoby pokryć wartości MIC i MBC licznych patogennych szczepów bakterii, grzybów i drożdży. W celu opracowania podstaw teoretycznych pracy badawczej, dokonano przeglądu i omówienia zaawansowanych technologii dostępnych i opisanych w literaturze naukowej. Do poszukiwań receptur zawierających w składzie propolis wykorzystana została multiwyszukiwarka prac naukowych w usłudze EBSCO Discovery Service. W ten sposób odnalezione 82 prace badawcze (stan na dzień 19.04.2021r.) zostały pogrupowane kategoriami zależnymi od nazwanej i/lub scharakteryzowanej w danej pracy technologii (Rysunek 3).



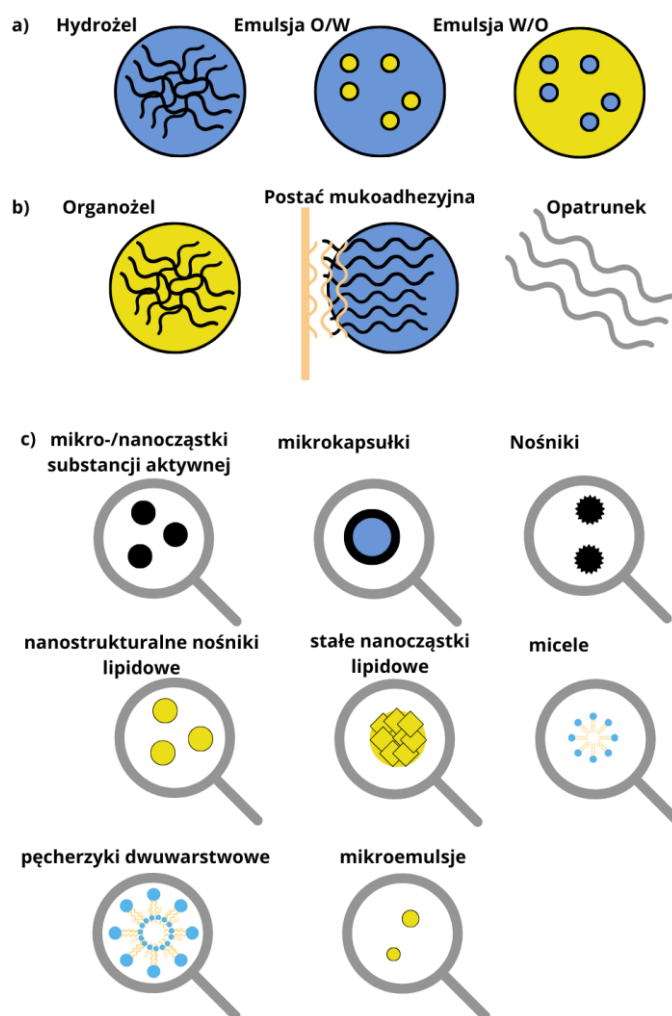
Rysunek 3 Ilościowa segregacja prac technologicznych zawierających w składzie propolis lub jego składniki. Źródło: G. Suwiński, I. Nowak, „Tradycyjne i nowatorskie technologie systemów dostarczania leku dla substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie. Studium przypadku na przykładzie propolisu” *Przemysł Chemiczny* 2021, 1, 6, 94–99.

Jak zauważyli Kalepu i Nekkanti, aż 40% substancji aktywnych dostępnych na rynku oraz blisko 90% substancji znajdujących się w procesie rejestracyjnym FDA to substancje słabo rozpuszczalne w wodzie⁵⁾. Z kolei przedstawiony tu przegląd badań literaturowych wykazał, że aż 80 spośród 82 prac dotyczących preparatyki formulacji zawierających propolis zostało opublikowanych zaledwie dekadę wcześniej³⁹⁾. Zbieżność tych dwóch faktów pokazuje, jak potrzebny staje się rozwój nowych technologii, które będą potrafiły sprostać wyzwaniom natury chemicznej stawianym przez nowe, trudno rozpuszczalne cząsteczki.

Wśród interesujących wniosków z przeglądu warto nadmienić, że zaskakująco dużo opisów (aż 14) dotyczyło technologii mukoadhezyjnych. Wskazuje to na rosnące zainteresowanie postaciami leku wykorzystywanymi na przykład w stomatologii. Ponad to propolis jako naturalna substancja aktywna jest wykorzystywana przez stomatologów do leczenia objawów aftozy⁴⁰⁾, stanów zapalnych dziąseł⁴¹⁾. Z kolei ginekolodzy i urolodzy wykorzystują go do łagodzenia objawów opryszczki wywołanej wirusem HSV-2²⁴⁾. Przykładowo, w pracy A. Aslani i Malekpour N, związanej z aplikacją propolisu na śluzówkę dziąseł, zbadano 10 nośników mukoadhezyjnych cechujących się zawartością polimerów bogatych w grupy hydroksylowe: glikol polietylenowy

(PEG 400), hydroksypropylometylocelulozę (HPMC) i karboksylowe: karboksymetyloceluloza sodu (NaCMC), polimer kwasu akrylowego (Carbopol 940). W celu wytypowania formulacji najlepiej spełniających swoje zadanie w zastosowaniach na błony śluzowe, wykorzystano szereg metod badawczych: ocenę mikroskopową, pomiar pH, ocenę stabilności po wirowaniu oraz po przechowywaniu w niskich i podwyższonych temperaturach, test siły mukoadhezyjnej, zawartość flawonoidów, pomiar kinetyki uwalniania z postaci leku, a także aktywność przeciw szczepowi *P. gingivalis*. Podczas badań dokonywano kwalifikacji poszczególnych formulacji, a do kolejnych eksperymentów wybierano tylko te, które zachowywały stabilność oraz najkorzystniejsze z perspektywy użytkowania parametry. Ostatecznie do badań mikrobiologicznych autorzy wytypowali tylko jedną formulację zawierającą: 1% (w/w) Carbopolu 940 i 3% (w/w) NaCMC, a odznaczającą się optymalnym profilem uwalniania i lepkością odpowiednią do zastosowań na błonę śluzową. To wzorcowy przykład opisu eksperymentu służącego do screeningu (przeglądu i kwalifikacji receptur) oraz scharakteryzowania nowej technologii.

Nośniki mukoadhezyjne, podobnie jak organożele, ale także technologie tradycyjne (hydrożele, makroemulsje O/W i W/O) i niektóre opatrunki bazują przede wszystkim na charakterystyce i metodach badań w skali makro – co potwierdza omówiony przed chwilą przykład. Podczas gdy większość nowoczesnych technologii, takich jak mikro- i nanocząstki oraz pęcherzyki, jest badanych pod kątem charakterystyki w mikroskali. Są to między innymi pomiary potencjału zeta, efektywności enkapsulacji, indeksu polidispersyjności, dystrybucji (rozkładu) wielkości cząstek, ich kształtu oraz struktury, a także profilu kolorymetrii różnicowej i widma absorpcji światła podczerwonego (IR). Nośniki substancji czynnej w skali mikro muszą ostatecznie zostać wprowadzone do nośników w skali makro (zwykle są to klasyczne technologie – płyny, emulsje), ale wówczas substancja aktywna posiada już zmodyfikowane cechy – na przykład pod względem profilu uwalniania, czy rozpuszczalności. Technologie mogą posiadać zatem charakter mieszany i to ostatecznie badacz decyduje, które jej elementy są najistotniejsze oraz jakie metody badawcze są najbardziej odpowiednie do opisanie jej specyfiki. Na rysunku 4 przedstawiono wizualizacje pogrupowanych technologii.

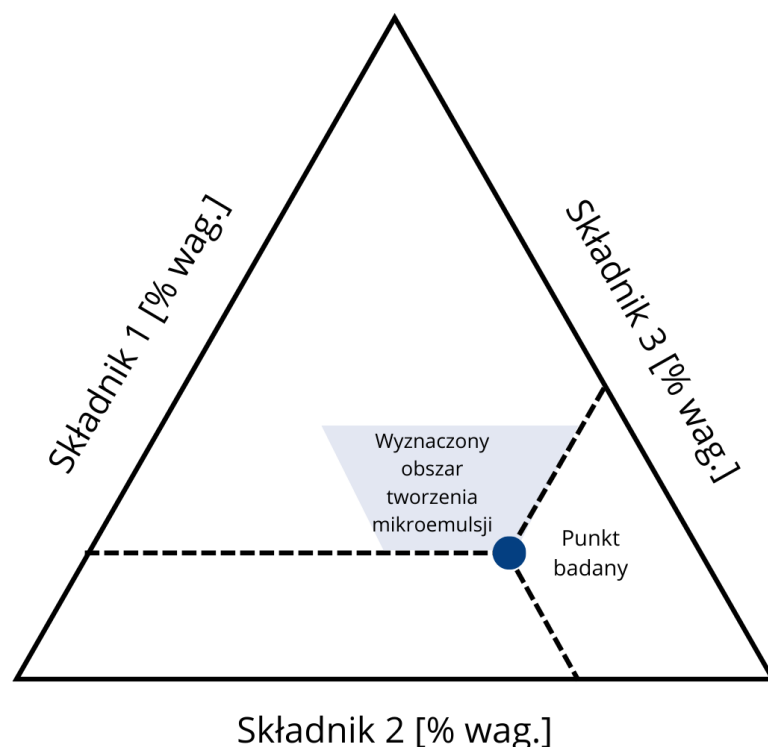


Rysunek 4 Wizualizacja różnych technologii wykorzystywanych jako nośniki: a) tradycyjne, w skali makro, b) nowoczesne, w skali makro, c) nowoczesne, w skali mikro/nano (opracowanie własne).

W kontraście do przedstawionej wyżej preparatyki, koncentrującej się na formulacji w skali makro, warto przytoczyć przykład technologii nośników skali mikro. Interesujące rozwiązanie zostało zaprezentowane przez zespół Guzmán-Oyarzo i in.⁴²⁾. W skrócie, nanoporowate nośniki krzemowe zostały uzyskane poprzez oczyszczenie (chemiczne odtłuszczenie z sonikacją), elektrochemiczne wytrawianie etanolem roztworem kwasu fluorowodorowego i elektropolerowanie. Następnie otrzymano struktury poprzez wycięcie ostrzem diamentowym, zmielenie, poddanie ultradźwiękowej agitacji w środowisku etanolu, a na końcu utlenienie za pomocą nadtlenu wodoru i oczyszczenie etanolem. Nanoporowate nośniki krzemowe zostały następnie umieszczone w 1% (w/v) roztworze chitozanu (pH=4), a następnie w roztworze β -cyklodekstryny, podfosforanu sodu i kwasu cytrynowego. Próbkę została oczyszczona, a następnie poddana procesowi polimeryzacji cyklodekstryn *in situ*, w temperaturze 140°C. Tak przygotowany nośnik (bez substancji aktywnej) poddano analizom:

potencjału zeta, spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera, termograwimetrii oraz obrazowaniu skaningowym mikroskopem elektronowym. Następnie do nośnika załadowano pinocembrynę i kwas kofeinowy (wytypowane składniki propolisu) poprzez 12-godzinne wytrząsanie z roztworami tych substancji. Na koniec dokonano pomiaru wydajności załadunku (masa polifenoli w mikrocząstkach / masa polifenoli w roztworze wyjściowym) i pojemności załadunku (masa polifenoli w mikrocząstkach / masa pustych mikrocząstek). Zbadano także profil uwalniania i cytotoksyczność skonstruowanych cząstek. Wynikiem zastosowania tej technologii było spowolnienie uwalniania polifenoli dzięki środowisku żelu β -cyklodekstryny okalającego nanoporowate struktury - względem profilu uwalniania samych nanoporowatych struktur. Jest to przykład publikacji, w której zasadnicze znaczenie miała identyfikacja chemiczna i fizyczna wytworzonych nośników. Złożoność procesu technologicznego wymagała także rozbudowanych procesów kontroli jakości i identyfikacji. Jest to rzadziej spotykany przypadek, ponieważ w opisywanym tutaj przeglądzie dominowały prace opisujące przede wszystkim badania związane z zastosowaniami medycznymi nowych technologii.

Dobór poszczególnych metod badawczych w dwóch opisanych wyżej przykładach wskazuje, że nie ma jednego, uniwersalnego sposobu scharakteryzowania technologii. Najczęściej wybierane są metody charakterystyczne dla danej grupy technologicznej. Kolejnym kontrastującym przykładem mogą być systemy samomikroemulgujące (ang. SMEDDS – Self Emulsifying Drug Delivery System). Za przykład można wskazać pracę T. Wang i współpracowników⁴³). W tym rodzaju technologii kluczową rolę w charakterystyce odgrywają diagramy trójfazowe, które wizualizują proporcje faz umożliwiające powstanie trwałej mikroemulsji. W kompozycji wymienione są trzy zmienne: stężenie oleju, surfaktantu i ko-surfaktantu. Wyznaczenie obszaru mikroemulgacji wymaga przygotowania wielu próbek o ściśle określonych proporcjach. Obszar wyznaczany jest dla takich próbek, które po wymieszaniu tworzą transparentną, o lekko niebieskim zabarwieniu, stabilną mikroemulsję (Rysunek 5).



Rysunek 5 Przykładowy schemat wyznaczenia obszaru, dla którego zawartość poszczególnych składników ma zdolność utworzenia mikroemulsji (opracowanie własne).

Badacze w swoim eksperymencie używali pomiaru wielkości cząstek i potencjału zeta, ponieważ kwalifikacja mikroemulsji odbywa się na podstawie wielkości wytworzonych kropli (w zakresie 1-100 nm). Przeprowadzono także badanie stabilności systemu przez okres 3 miesięcy. Sprawdzono również pojemności systemu pod względem dodatku etanolowego ekstraktu z propolisu (PEE) oraz aktywności formułacji przeciw kilku popularnym szczepom bakterii i grzybów patogennych.

Na koniec przeglądu warto przytoczyć przykład technologii organożelu, która będzie tematem części eksperymentalnej tej pracy. Organożele stanowią bardzo szeroką grupę technologiczną – tak w kontekście doboru komponentów, jak i właściwości (np. wysokoelastyczne czy elektroprzewodzące organożele). Spośród licznych organożeli opisywanych w literaturze zaledwie niewielka ich część przygotowana jest do stosowania w dermatologii, co wynika przede wszystkim z toksyczności wielu rozpuszczalników i żelatorów⁴⁴). Najbardziej popularne w zastosowaniach medycznych są organożele zbudowane z lecytyny (LO, *Lecithin Organogel*) i mieszaniny Pluronic-lecytyna (PLO, *Pluronic-Lecithin Organogel*)⁴⁵). Za przykład posłużyć może praca zespołu G. Balata⁴⁶), w której inkorporowano 3% (w/w) etanolowy ekstrakt z propolisu do PLO, charakteryzującego się cylindrycznymi micelami sieciującymi wewnątrz fazy olejowej. Formułacja organożelu była przygotowywana w następujący sposób: w fazie olejowej

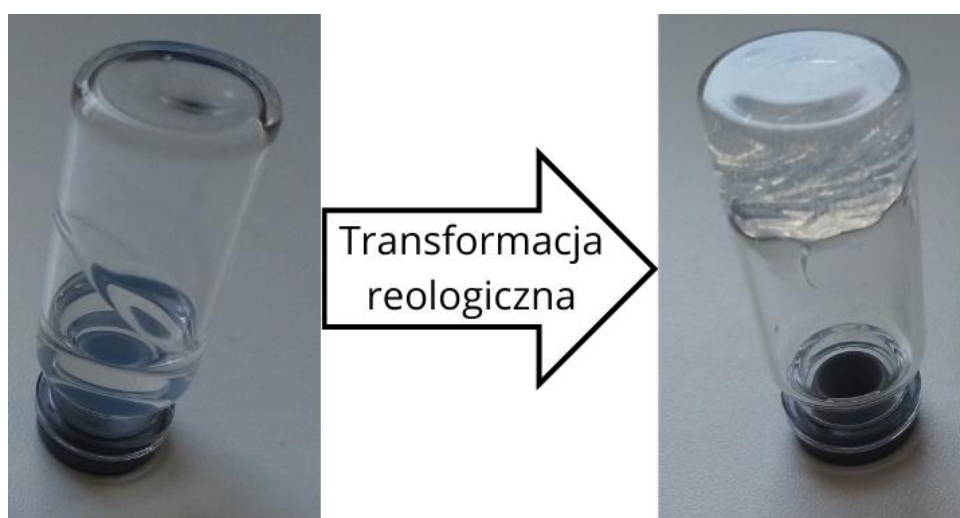
rozpuszczono lecytynę, a następnie dodano etanolowy roztwór z propolisu rozpuszczony w glikolu polietylenowym (PEG 400). Pluronic F127 (kopolimer glikolu propylenowego otoczony blokami glikolu polietylenowego) rozpuszczono w wodzie i powoli dodawano do niego przygotowaną fazę olejową, intensywnie mieszając. Ten reprezentatywny przykład pokazuje, że preparatyka organożeli nie wymaga zaawansowanej aparatury, a sam proces prowadzony jest w temperaturze pokojowej. Z tego powodu organożele cieszą się dużym zainteresowaniem badaczy jako technologii efektywnej kosztowo, a dającej szerokie możliwości inkorporowania substancji aktywnej względem receptur tradycyjnych. Powracając do przykładu, charakterystyka fizykochemiczna obejmowała: wygląd fizyczny, pomiar pH, lepkości, badania uwalniania, przenikania przezskórnego, minimalnego stężenia hamującego rozwój mikroorganizmów (MIC, *Minimal Inhibitory Concentration*). Preferencyjna formuła zawierająca 3% (w/w) lecytyny i 20% Pluronic została wytypowana na podstawie najwyższej ilości uwolnionej substancji czynnej i przenikania przezskórnego.

Wspomniana łatwość procesowania, dobra rozpuszczalność substancji aktywnych, ale także niska podatność na kontaminację mikrobiologiczną są niewątpliwymi korzyściami organożeli względem innych zaawansowanych technologii. Z drugiej strony formuły tej technologii odznaczają się zazwyczaj wyższą podatnością na stres termiczny i synerezę (zjawisko separacji frakcji płynnej z masy żelu)⁴⁷. Dodatkowo, PLO i LO, pomimo struktury żelu, nie posiadają cech wizualnych, charakterystycznych dla popularnych na rynku hydrożeli karbomerowych (transparentność, elastyczność, lepkość pseudoplastyczną tiksotropową)⁴⁸.

Eksperymenty przewidziane w zakresie niniejszej pracy miały na celu stworzenie organożelu, który byłby podobny charakterystyką i wyglądem do popularnych hydrożeli karbomerowych, ale odznaczał się przy tym wyższą rozpuszczalnością trudno rozpuszczalnych substancji aktywnych. Ponadto nowa technologia miała cechować się możliwie wysoką stabilnością (termiczną, długoterminową, w szczególności w kontekście zjawiska synerezy). W skrócie – celem nowego organożelu było zachowanie zalet tej technologii, przy jednoczesnym zminimalizowaniu jej wad. Finalnie, nowa technologia miała być przygotowana do komercjalizacji.

PAT1 - Suwiński, G. Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny, WUP UPRP 2022, 43, 5.

Liczne eksperymenty laboratoryjne doprowadziły do opracowania nowej technologii w grupie organożeli wykorzystujących jako żelator krzemionkę koloidalną. To nie było pierwsze tego typu odkrycie – organożele z krzemionką były już opisywane w literaturze, np. z olejem słonecznikowym lub poloxamerem jako fazą płynną^{49,50}). Jednak wynalazek opisany w patencie wyróżniał się interesującą transformacją reologiczną zol-żel, podobną do tej zachodzącej w żelach karbomerowych pod wpływem podwyższenia pH (Rysunek 6).



Rysunek 6 Próbką organożelu krzemionkowego [po lewej] przed transformacją reologiczną (dodatkiem wodnego roztworu regulującego pH) [po prawej] po transformacji reologicznej. Źródło: Suwiński, G. Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny, WUP UPRP 2022, 43, 5.

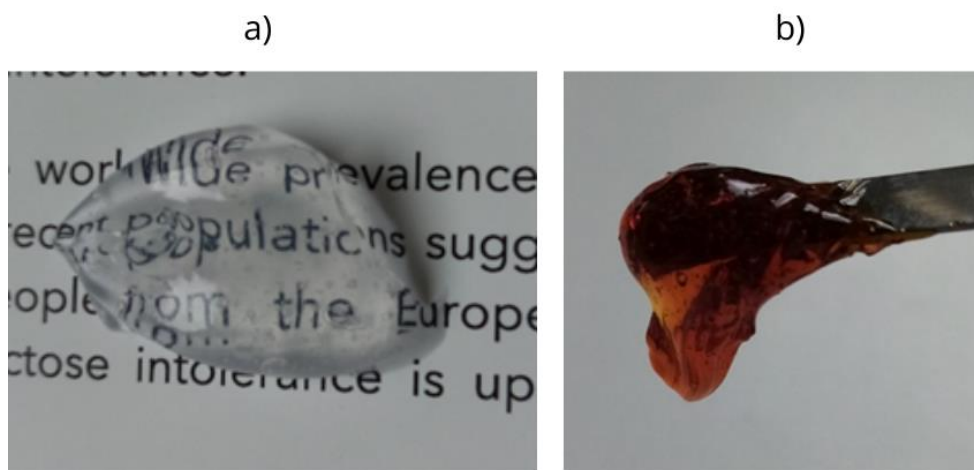
W tym przypadku utworzenie żelu także zachodziło pod wpływem mieszania, ale uzyskanie stabilnego żelu warunkowało kilka dodatkowych czynników:

- **głównym rozpuszczalnikiem był płynny związek organiczny** zawierający przynajmniej 2 atomy węgla, z czego przynajmniej jeden węgiel był połączony z atomem tlenu (np. grupy hydroksylowej), a przynajmniej jeden węgiel pozostawał niepodstawionym węglem grupy alifatycznej. Warunek spełniały związki organiczne wykazujące moment dipolowy, na przykład glikol propylenowy (substancja wykorzystywana w farmacji i kosmetyce, uznawana za bezpieczną w stosowaniu),
- żelatorem była **krzemionka koloidalna hydrofilowa**, na przykład najczęściej wykorzystywana w farmacji krzemionka o powierzchni właściwej 200 m²/g,
- w formulacji niezbędna była obecność przynajmniej minimalnej (2% w/w) ilości **wody**,
- a także **zasady** w kontekście teorii kwasów i zasad Lewisa lub Brønsteda-Lowry'ego.

Dodatkowymi substancjami, które znamienne wpływały na stabilność układu były: **regulator synerazy** (alkohol etylowy), **regulator lepkości** (makrogol 400), **regulator pH** (np. kwas cytrynowy).

Dopiero po spełnieniu tych warunków uzyskiwano organożel o stabilnej strukturze i wysokiej lepkości. Wiele innych konfiguracji mieszanin (np. niezawierających wody) skutkowało nietrwałą transformacją reologiczną. Przykładowo, glikol propylenowy po dodaniu krzemionki koloidalnej stawał się płynącym zolem o wysokiej lepkości. Dodatek trietyloaminy (zasady) w dalszej kolejności powodował transformację reologiczną, zagęszczając układ do postaci niepłynącej. Jednak dalszy proces mieszania zaburzał wytworzoną strukturę sieciującą krzemionki, ponownie doprowadzając do rozbicia struktur krzemionki i powstania płynącego zolu. Trwała struktura była uzyskana dopiero w momencie dodatku wodnego roztworu regulatora pH (np. 0,1% (w/w) roztworu kwasu cytrynowego). Wówczas żel nie ulegał upłynnieniu podczas dalszego mieszania. Aby dodatkowo zabezpieczyć stabilność długoterminową, szczególnie przed zjawiskiem synerazy, niezbędna okazała się obecność w formulacji regulatora synerazy i regulatora lepkości.

Organożel mógł funkcjonować samodzielnie jako „pusty” nośnik lub z inkorporowaną do niego substancją aktywną (Rysunek 7) – dodawaną w procesie wytwarzania żelu.



Rysunek 7 Wygląd organożelu krzemionkowego a) niezawierającego substancji aktywnej, b) zawierającego ekstrakt z propolisu. Źródło: Suwiński, G. Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny, WUP UPRP 2022, 43, 5.

Proces wytwarzania organożelu i inkorporowania substancji aktywnej jest niezwykle prosty. Uzyskanie masy produktu wymaga wyłącznie mieszania w temperaturze pokojowej, bez konieczności stosowania specjalnej aparatury, bądź specyficznych procesów wytwarzania (np. wysokowydajna homogenizacja). Oznacza to, że technologia

mogłaby być stosowana również przez farmaceutów w lekach recepturowych, podobnie jak wykorzystywane są wspomniane wcześniej receptury PLO i LO. Z drugiej strony, w procesach wytwarzania przemysłowego istotne utrudnienia mogłyby wynikać z wysokiej lepkości tej formuły (w procesie wytwarzania i konfekcji) oraz potencjalnej synerezie (podczas magazynowania). Z tego powodu kolejnym etapem były badania charakteryzujące niniejszą technologię. Wyniki zostały zaprezentowane w następnej publikacji.

P2 - Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Stability and Rheological Properties of the Novel Silica-Based Organogel—A Drug Carrier with High Solubilization Potential”, *Materials*, 2025, 18, 266.

Z chemicznego punktu widzenia, opisana w patencie ⁵¹⁾ technologia organożelu wydaje się szczególnie interesująca pod względem kompozycji składników, warunkujących prawidłowy przebieg transformacji reologicznej. Wspomniana transformacja powoduje wzrost lepkości próbki, co w pomiarach jest szczególnie zauważalne w porównaniu lepkości przy niskich prędkościach ścinania (<100/s), jeszcze przed rozrzedzeniem próbki ścinaniem. W efekcie wzrostu lepkości dochodzi do zaniku płynięcia masy pod wpływem grawitacji – jak przedstawiono wcześniej na Rysunku 6. Nadanie masie charakteru niepłynącego żelu wpływa korzystnie na aplikację i utrzymywanie się produktu na skórze. W badaniach prowadzonych nad organożelem krzemionkowym podjęto próby wyjaśnienia i interpretacji zjawiska żelowania pod względem oddziaływań fizycznych i chemicznych usieciowanej struktury, mianowicie:

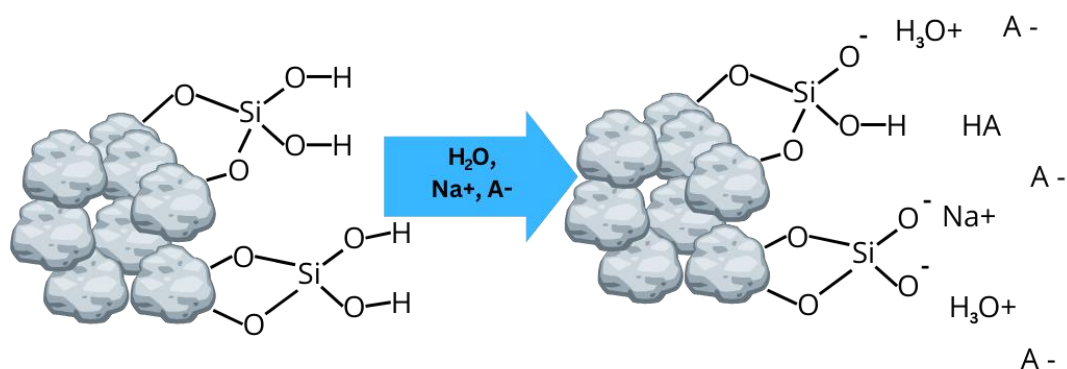
1. Porównując widma **absorbancji światła podczerwonego (IR) z transformacją Fouriera** próbek mieszanin przed i po transformacji reologicznej nie udało się ustalić wytworzenia nowych rodzajów wiązań w strukturze organożelu, Na tej podstawie oraz braku teoretycznego uzasadnienia, wykluczono wpływ reakcji chemicznej na sieciowanie krzemionki.
2. Próba analizy **potencjału zeta** zakończyła się niepowodzeniem z powodu ograniczeń metodyki. Konieczność rozcieńczenia organożelu wodą pozbawiłoby badanie zasadności, ponieważ organożel przekształciłby się w dyspersję krzemionki w wodzie, a prawdziwe interakcje żelatora zostałyby wówczas utracone,

3. Analiza **mikroskopii konfokalnej** wykazała nieregularność powierzchni próbki organożelu. Mogło to świadczyć o obecności struktur agregującej krzemionki,

4. Analiza **obrazowania skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM)** wymagała spreparowania kserożelu (ciała stałego) z organożelu krzemionkowego. W tym celu przygotowano organożel zawierający etanol, który następnie odparowano. Obrazowanie w wysokiej rozdzielczości pozwoliło zidentyfikować struktury agregatów krzemionki,

5. Analiza **dystrybucji wielkości cząstek** pozwoliła na ocenę wpływu transformacji reologicznej na wielkość cząstek zdyspergowanych. Jak zauważono, transformacja reologiczna w niewielkim stopniu zmieniła wielkość cząstek dyspersji (mediana +11,9%). Większe znaczenie miało zastosowanie etanolu (mediana +55,3%) – substancji stabilizującej organożel, opisaney w patencie jako „stabilizator synerezy” (znaczenie tej obserwacji zostanie przedstawione w dalszej części rozprawy). Wywnioskowano, że w procesie transformacji nie dochodzi do zauważalnego powiększania się struktur agregatów krzemionki koloidalnej.

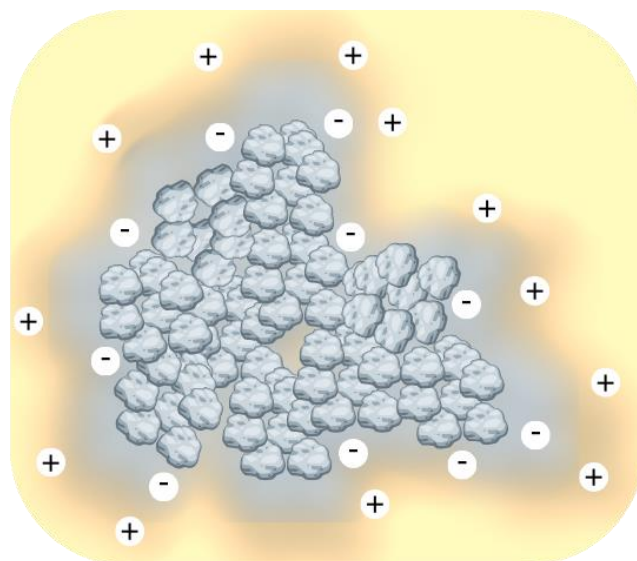
Powyżej opisane eksperymenty wspierały hipotezę pojawienia się w mieszaninie potencjału elektrokinetycznego, który stabilizuje i odpycha od siebie agregaty krzemionki. Podczas transformacji agregaty krzemionki nie ulegają istotnemu powiększeniu lub pomniejszeniu, ale na powierzchnia cząstek krzemionki pojawia się ładunek elektrokinetyczny, wynikający z dodatku do mieszaniny wodnego roztworu słabego kwasu i zasady (Rysunek 8).



Rysunek 8. Ilustracja wytworzenia potencjału elektrokinetycznego na powierzchni krzemionki koloidalnej w wyniku oddziaływania jonów silnej zasady i słabego kwasu na wolne grupy silanowe w obecności wody (rysunek własny).

Wolne grupy silanolowe Si-O-H na powierzchni cząstek krzemionki w obecności zasady są zdolne do wytworzenia ładunku ujemnego, otoczonego przez ładunek dodatni jonów przeciwnych (w zależności od użytej zasady)⁵²). Tak zgromadzony ładunek elektrokinetyczny, podobnie jak w emulsjach, stabilizuje strukturę organożelu poprzez

siły repulsywne pomiędzy poszczególnymi agregatami krzemionki – ładunek dodatni otaczający agregat nie pozwala na zbliżenie się innego agregatu otoczonego tym samym ładunkiem (Rysunek 9).



Rysunek 9. Wizualizacja potencjału elektrokinetycznego na powierzchni agregatu krzemionki (rysunek własny).

W efekcie unieruchomiona elektrokinetyczna struktura żelatora w skali makro objawia się wzrostem lepkości i zanikiem płynięcia zolu.

Wpływ rodzaju rozpuszczalnika na wielkość agregatów krzemionki wynika z innych czynników. Z obserwacji oddziaływania różnych rozpuszczalników organicznych z krzemionką wynika, że ten żelator jest słabiej solubilizowany przez alkohole jednowodorotlenowe (niższa transparentność mieszaniny, mniejsza zdolność do płynięcia), a lepiej przez poliole (wyższa transparentność, wyższa tendencja do płynięcia mieszaniny). Najprawdopodobniej spowodowane jest to zdolnością do wytwarzania silniejszej interakcji polioli w wyniku większej ilości wiązań wodorowych pomiędzy grupami hydroksylowymi -OH polioli, a grupami silanolowymi -Si-OH krzemionki. Z tego powodu, na przykładzie interakcji krzemionki z etanolem, dochodzi do wytworzenia (lub wytrącenia) większych struktur agregatów. W skali makro objawia się to silniejszym zmętnieniem formulacji, a w analizie dystrybucji cząstek – zwiększeniem ich wielkości np. względem glikolu propylenowego. Interpretacja tego zjawiska jest istotna w kontekście opracowania projektu mieszaniny organożelu – w celu optymalizacji jej stabilności, transparentności i lepkości.

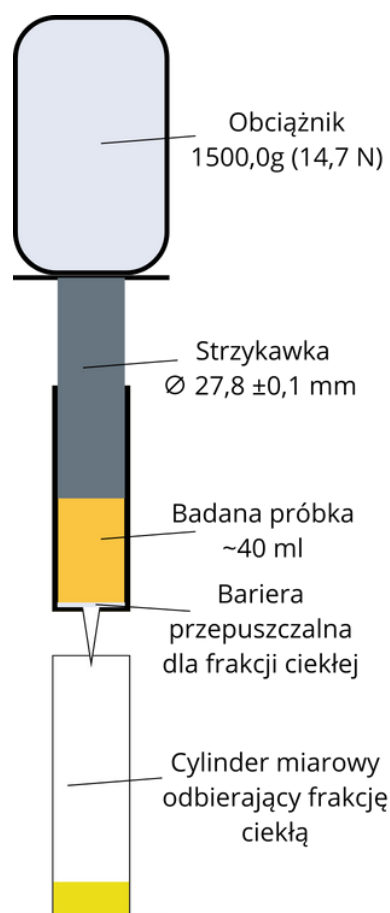
Kolejnym krokiem projektu badawczego było zbadanie stabilności masy organożelu. Po pierwsze dlatego, że przedmiotowy organożel krzemionkowy miał tendencję do separacji frakcji ciekłej, tzw. zjawiska synerезы^{53–55}). Po drugie, organożel

opracowany w ramach tej pracy miał być komercjalizowany, co w praktyce rynkowej wymaga zapewnienia stabilności mieszaniny przez co najmniej 2 lata. Na potrzeby badań długoterminowych w komorze klimatycznej (30°C, 60% wilgotności) wytypowano 4 formuły organożelu. Zaledwie jedna mieszanina, zawierająca oprócz krzemionki wodę, etanol, makrogol 400, okazała się stabilna w wymaganym okresie 2 lat. W pozostałych próbkach obserwowano separację cieczy (Rysunek 10).



Rysunek 10. Próbką zawierająca organożel krzemionkowy z ekstraktem z propolisu – posiadająca widoczne objawy synerезy.

Aby lepiej zrozumieć naturę synerезy i zminimalizować jej wpływ na stabilność organożelu, przeprowadzono badania tego zjawiska. W tym celu wykorzystano opracowaną przez Wilhelm i Kind w 2014 roku metodę przyspieszonego badania synerезy (tzw. synerезy wymuszonej), którą przeprowadzali na hydrożelu krzemionkowym^{56,57}). Metodę zmodyfikowano w celu uproszczenia konstrukcji układu pomiarowego, a następnie zbadano wpływ poszczególnych składników formuacji na intensywność zjawiska synerезy. Schemat skonstruowanego układu pomiarowego prezentuje Rysunek 11.



Rysunek 11. Układ do badania wymuszonej synerezy na podstawie metody zaproponowanej przez Wilhelm i Kind w 2014 roku z dalszymi modyfikacjami (rysunek własny).

Badanie polegało na umieszczeniu około 40 ml próbki w strzykawce o stałej średnicy $\varnothing 27,8 \pm 0,1$ mm, z barierą na dnie przepuszczalną dla frakcji ciekłej, lecz nieprzepuszczalną dla frakcji półstałej. Po 30-minutowej stabilizacji i nasączeniu bariery, dociskano tłok strzykawki w taki sposób, aby doprowadzić do pełnego styku masy (bez pęcherzy powietrza). Na tłoku strzykawki, ustawionej pionowo nad cylindrem miarowym, umieszczono obciążnik o stałej masie 1500 g. Pomiaru synerezy dokonywano w wyznaczonych odstępach czasowych (0,5–24 h), rejestrując wartość $St = \Delta V / V_0$ [%], gdzie St oznacza stopień synerezy po czasie t , ΔV to objętość frakcji ciekłej, a V_0 to objętość początkowa próbki. Badanie miało na celu ocenę wpływu poszczególnych składników formulacji bazowej na stopień wymuszonej synerezy. Spośród analizowanych składników, woda i makrogl 400 negatywnie wpływały na stabilność organożelu. Jedynym czynnikiem wpływającym pozytywnie na stabilizację było zwiększenie stężenia krzemionki koloidalnej w formulacji organożelu. Z drugiej strony taki zabieg doprowadzał do podwyższenia lepkości mieszaniny, dlatego zdecydowano się pozostawić dotychczas wytypowaną formułę jako preferencyjną

do dalszych badań. Eksperymentami dopełniającymi informacje o stabilności mieszaniny były badania stresu termicznego - masy organożelu poddanej temperaturze 70°C, a także badania wahadłowe, polegające na przemiennym umieszczaniu próbek w warunkach chłodniczych (od 2°C) i grzewczych (40°C). Badana formuacja w obu przypadkach nie wykazała widocznych objawów fizycznej destabilizacji.

Ostatnią grupą badań były testy dermatologicznej użyteczności organożelu zawierającego ekstrakt z propolisu. W badaniach kontaktu próbki ze skórą ludzką (tzw. testy płatkowe⁵⁸) nie stwierdzono drażniącego działania. W badaniach przeciwdrobnoustrojowych wykazano, że po 6 godzinach organożel zawierający propolis skutecznie redukuje liczebność dwóch patogennych szczepów bakterii, Gram-ujemnej: *Escherichia coli* oraz bakterii Gram-dodatniej: *Staphylococcus aureus*, doprowadzając do śmierci 99,9% jednostek (CFU) już po 6 godzinach. Podobne działanie bakteriobójcze wykazano dla ekstraktu z propolisu działającego w pH 5-6⁵⁹).

Cykl eksperymentów nad organożelem krzemionkowym kończyło badanie uwalniania. Do tego celu zamiast propolisu zastosowano ibuprofen – substancję z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, wykorzystywaną w maściach przeciwbólowych. Zamiana miała na celu uproszczenie badania oraz sprawdzenie organożelu w połączeniu z inną substancją trudno rozpuszczalną w wodzie. W badaniu zaobserwowano uwalnianie zgodnie z kinetyką I-rzędu (współczynnik korelacji $R^2=0,973$). Co interesujące, około 80% substancji aktywnej zostało uwolnione z maści w ciągu 1 doby. Z jednej strony taka prędkość pozwala uwolnić większość substancji z organożelu przed usunięciem lub zmyciem go ze skóry. Z drugiej strony substancja uwalniana jest przez dłuższy czas, przynosząc pożądaną ulgę. Przykładowo, w systemie terapeutycznym zawierającym także 10% (w/w) ibuprofenu, około 80% substancji zostało uwolnione w 6 godzin⁶⁰).

P3 - Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Innovative Honey-Based Product and Its Beneficial Effects Measured by Modern Biophysical and Imaging Skin Techniques”, *Pharmaceuticals*, 2024, 17, 1709.

W kolejnym etapie badań skupiono się na technologiach inkorporacji miodu pszczelego. W przeciwieństwie do propolisu, miód jest mieszaniną łatwo rozpuszczalną w wodzie. Jednak jego głównymi ograniczeniami są termolabilność (denaturacja enzymów zawartych w miodzie) oraz efekt klejącego filmu na skórze po aplikacji.

W celach eksperymentalnych i komercjalizacyjnych produktu o wysokiej zawartości miodu, zdecydowano o wyborze tradycyjnej technologii, kremu typu olej w wodzie. Korzyściami wynikającymi z takiej decyzji były przede wszystkim: szerokie możliwości doboru substancji pomocniczych redukujących nieprzyjemne odczucia sensoryczne oraz prostota i koszt industrializacji produktu opartego o tą technologię.

Badanie uwzględniało wpływ formulacji z różnym stężeniem miodu (0–15% w/w) na odczucia sensoryczne oraz parametry skóry: nawilżenie, barierowość, gładkość, powierzchnię zmarszczek po okresie 4 tygodni stosowania. Najbardziej zbliżony tego typu eksperyment zaprezentował zespół Pavlačková, który opublikował w 2020 r. informację o wpływie 5% i 10% miodu (kwiatowego oraz leśnego) inkorporowanego w kremie typu O/W (olej w wodzie) na profil sensoryczny i parametry skóry w okresie 2 dni, po przemyciu skóry roztworem 0,5% laurylosiarczanu sodu. W badaniu wykazano brak wpływu stężenia miodu na odczucia sensoryczne. Wskazano również, że wyższe stężenie miodu ma wpływ na poprawę nawilżenia skóry. Nie stwierdzono podobnego wpływu na TEWL (transepidermalną utratę wody) – zwiększenie stężenia miodu z 5% do 10% (w/w) nie miało wpływu na poprawę bariery skórnej⁶¹). Należy przy tym zaznaczyć, że przytoczony eksperyment obejmował krótkoterminowy okres działania kosmetyków zawierających miód (po 1 aplikacji preparatu na skórę). Badania przygotowane w niniejszej rozprawie doktorskiej koncentrowały się na działaniu miodu w efekcie długoterminowego, 4 tygodniowego użytkowania badanego preparatu.

Projekt przedmiotowej pracy badawczej był kilkuetapowy. Pierwszym etapem była kwalifikacja receptur zdolnych do redukcji odczucia klejenia miodu. Doświadczalnie wyznaczono formułę zawierającą 15% (w/w) miodu o atrakcyjnych sensorycznie cechach. We wspomnianej mieszaninie funkcje poprawiające sensorykę pełnił 2-metylo-1,3-propanediol. Wytypowaną recepturę podzielono na 4 rodzaje próbek, w których ustalono kompozycję bazową, a różnice wynikały z zawartości dodanego miodu wielokwiatowego: kolejno 0%, 5%, 10% i 15% w/w. Zawartość receptury uzupełniano wodą do 100%. Tak uzyskane próbki oznaczono w sposób nie ujawniający osobom badanym zawartości miodu. Ponadto miód został zamaskowany w recepturze kompozycją zapachową i barwiącym olejem. Projekt uruchomiono na podstawie pozytywnej decyzji komisji bioetycznej (Uchwała 24/23 z dnia 12.01.2023r. Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu).

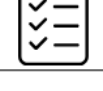
24 osoby badane przydzielano do jednej z dwóch grup. Każda grupa otrzymywała zestaw próbek 0 i 10% (w/w) miodu lub 5 i 15% (w/w) miodu do stosowania na grzbiet

odpowiednio lewej i prawej dłoni, codziennie przez okres 4 tygodni. Taki podział próbek pozwalał na porównanie różnicy stężeń miodu ($\Delta 10\%$) przez tego samego użytkownika, co stanowiło punkt odniesienia do oceny w kwestionariuszu. Jednocześnie taki sposób dystrybucji próbek był stosunkowo prosty dla pojedynczego probanta, dzięki czemu istniało mniejsze ryzyko zaniechania eksperymentu lub niestosowania się do zapisów instrukcji.



Rysunek 12. Schemat stosowania próbek: 2 kremy w losowanej parze 0%/10% i 5%/15% w/w miodu były aplikowane na grzbiet (zewnętrzną stronę) odpowiednio lewej i prawej dłoni przynajmniej raz na dobę, przez okres 4 tygodni.

Dane zbierano w trzech punktach czasowych: przed zastosowaniem próbek (punkt kontrolny), 15 minut po ich aplikacji oraz po 4 tygodniach regularnego stosowania. W badaniach użyto urządzeń firmy Courage&Khazaka Electronic GmbH: Corneometer CM 825, Tewameter TM 300, Cutometer dual MPA 580, kamerę Visioscan VC 98 USB oraz aparat Visioline VL 650 – Quantridies do analizy silikonowych replik skóry. Po 4 tygodniach uczestnicy wypełniali kwestionariusze oceniające właściwości sensoryczne (skala 0–5) oraz efekt klejenia (skala 0–10). W pierwszym punkcie czasowym nie uwzględniono badań mikropowierzchni skóry, ponieważ ich celem była ocena długoterminowego wpływu miodu na wygładzenie i redukcję zmarszczek. Krótkoterminowe działanie polegałoby jedynie na chwilowym nawilżeniu naskórka, co mogłoby zafałszować wyniki. Schemat badań przedstawiony jest na rysunku 13.

SCHEMAT BADAŃ		PUNKT KONTROLNY 0 MINUT	PUNKT KONTROLNY 15 MINUT	PUNKT KONTROLNY 4 TYGODNIE
Korneometr		✓	✓	✓
Tewametr		✓	✓	✓
Kutometr		✓	✓	✓
Kamera wysokorozdzielcza		✓		✓
Obrazowanie replik skóry		✓		✓
Kwestionariusz				✓

Rysunek 13. Schemat badań kremów z zawartością miodu (opracowanie własne).

Do analizy surowych danych zastosowano podstawowe testy pozwalające na ocenę istotności wyników (dla poziomu $p < 0,05$): test t-Studenta dla zmiennych zależnych w grupach 0%, 5%, 10% i 15% (w/w) miodu oraz w punktach czasowych 0, 15 minut i 4 tygodnie, a także analizę wariancji (ANOVA) wraz z poprawką post hoc Bonfferoniego.

Analiza kwestionariuszy nie wykazała statystycznie istotnych różnic między grupami 0%/10% i 5%/15% (w/w) w zakresie kleistości, rozprowadzania, wchłaniania oraz pozostawienia nawilżającego filmu na skórze. Wynik ten sugeruje, że receptura skutecznie spełniła założenia dotyczące maskowania właściwości sensorycznych miodu. 15 minut po zastosowaniu kremów nie wykazano różnic wpływu stężeń miodu. Wynik jest odmienny od wspomnianego wcześniej badania czeskich naukowców.⁶¹⁾, co może wynikać z różnic czasowych w punktach pomiarowych oraz przygotowania skóry do badania. Po 4 tygodniach stosowania efekt nawilżenia skóry kremem placebo (0% w/w) różnił się istotnie ($p < 0,001$) w stosunku do kremu zawierającego 15% (w/w) miodu. Efekt odpowiedzi był tym wyższy, im wyższe było stężenie miodu w preparacie. Odmienny rezultat przyniosło badanie przeznaskórkowej utraty wody. Po 4 tygodniach stosowania formuły: 0%, 5%, 10%, za wyjątkiem 15% (w/w) miodu spowodowały redukcję TEWL. Jest to wynik nieoczekiwany, ponieważ poprawa nawilżenia skóry zazwyczaj wiąże się z obniżeniem parametru TEWL ⁶²⁾. Podejrzewa się, że zwiększone parowanie może być wynikiem osmozy – podwyższona zawartość wody w naskórku

mogłaby wywołać wyższą prężność pary ponad skórą. Kontynuacja badań z wyższymi zawartościami miodu (>15%), na większych grupach badawczych byłaby wskazana do prawidłowej oceny tego zjawiska. Należy przy tym zaznaczyć, że analiza post hoc nie wykazała różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami.

Kolejnym parametrem badanym była elastyczność naskórka. W tym przypadku nie udało się wskazać statystycznie istotnych różnic. Badania przedstawiane w literaturze, na przykład transferosomów zawierających ekstrakt z ostryżu długiego (*curcuma longa*) przedstawiają około 70% poprawę poziomu elastyczności skóry względem kremu placebo już po 2 tygodniach stosowania⁶³⁾. Brak wpływu kremów z miodem na elastyczność skóry może wynikać z różnych czynników, takich jak brak bezpośredniego wpływu miodu na syntezę fibroblastów⁶⁴⁾.

Sonda Visioscan pozwoliła zdefiniować poziom gładkości skóry przed i po badaniach. Wyniki pokazały, że najlepsze działanie pod względem tego parametru miał krem z 5% (w/w) zawartością miodu, który poprawił gładkość skóry średnio o 21,3%. To kolejny parametr pokazujący, że siła efektu odpowiedzi nie musi być proporcjonalna do rosnącej zawartości substancji aktywnej w recepturze. W tym przypadku wynik jest bardzo nietypowy, ponieważ dotyczy tylko jednego kremu, z najniższą zawartością miodu, a wynik poprawy o ponad 20% jest rzadki. Źródła opisujące efektywność nowych receptur stosowanych przez okres 1 miesiąca lub dłuższy wskazują poprawę nieprzekraczającą 10%^{65 ,66)}. Być może proporcja miodu, jako substancji nawilżającej do wody jest optymalna i w ten sposób najlepiej oddziałuje na naskórek. Nie można również wykluczyć błędów pomiarowych, takich jak niewielka liczba badanych lub naciągnięcie skóry podczas pomiaru kamerą.

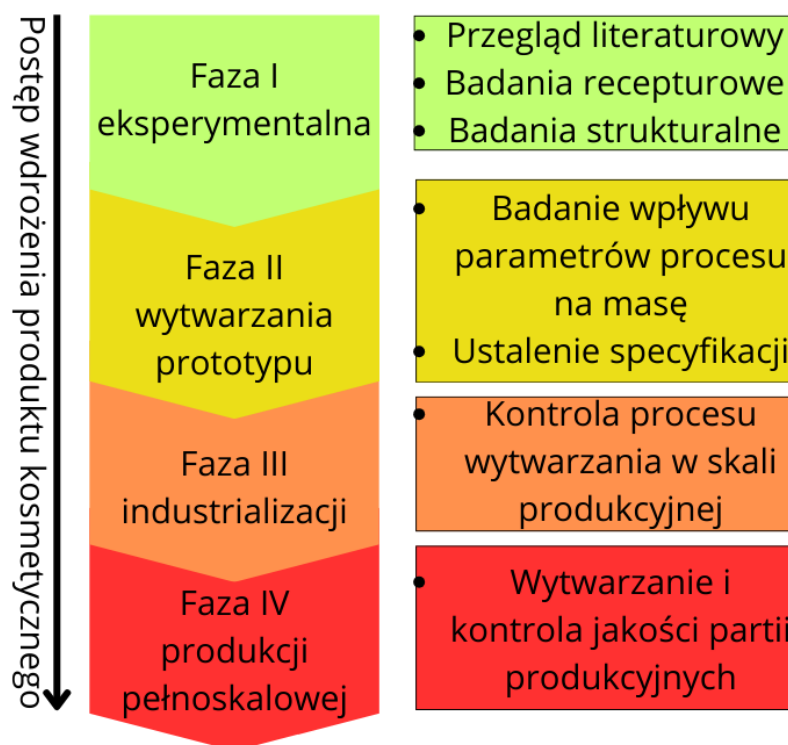
Ze względu na nietypowy wynik uzyskany sondą Visioscan oraz brak istotności statystycznej obliczonej analizą ANOVA z korektą Bonfferoniego, w badaniu uwzględniono dodatkową metodę analizy struktury powierzchni skóry: kamerą Visioline VL 650 – Quantridies, w której pomiar wykonywany jest na unieruchomionej replice skóry zamiast *in situ*, jak w przypadku kamery Visioscan. Przy użyciu kamery Visioline mierzono dwa parametry: powierzchnię i średnią głębokość zmarszczek. Ta metoda po 4 tygodniach wykazała istotne różnice w redukcji głębokości zmarszczek pomiędzy kremem placebo, a kremami o zawartości 5% i 15% (w/w) miodu. W teście t-Studenta wewnątrz grup, krem placebo nie wpłynął na redukcję głębokości ani powierzchni zmarszczek. Krem z 5% (w/w) zawartością miodu wpłynął na redukcję powierzchni zmarszczek, natomiast kremy o zawartości 10% i 15% (w/w) miodu redukowały zarówno

powierzchnię, jak i głębokość zmarszczek. Efekt wygładzenia może być wynikiem regularnego nawilżania skóry. Jest to jednocześnie wynik bliższy spodziewanemu efektowi. Wszystkie kremy z dodatkiem miodu wykazały średnio około 20% redukcji zmarszczek (-18,25% do -21,29%), co jest wynikiem bliskim innemu przykładowi opisywanemu w literaturze – kremu zawierającego aukubinę (gdzie redukcja wyniosła około -24,5%)⁶⁷).

Badanie to potwierdza istotny wpływ miodu na parametry skóry. Jednocześnie wykazano, że wraz z podwyższaniem zawartości miodu w recepturze rośnie efektywność działania nawilżającego i przeciwzmarszczkowego. Wybrana technologia była wystarczająca do osiągnięcia podstawowych założeń projektu. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, można uznać miód za interesującą, naturalną i efektywną kosztowo substancję przeciwdziałającą efektom starzenia się skóry. W kolejnym rozdziale omówiony zostanie proces industrializacji oraz komercjalizacji opracowanych receptur.

4.5. Wdrożenie w przedsiębiorstwie

Niniejsza rozprawa doktorska jest realizowana zgodnie z założeniami projektu „Doktorat wdrożeniowy”, obejmując część badawczą oraz część związaną z implementacją wyników badań. Wdrożenie zostało przeprowadzone w Przedsiębiorstwie Farmaceutycznym Farmapol Sp. z o. o. z siedzibą w Poznaniu. Zgodnie z decyzją Zarządu spółki, receptury żelu propolisowego oraz kremu zawierającego miód miały zostać wytworzone i udostępnione na rynku aptecznym jako produkty kosmetyczne pod marką Tisane®. Wdrożenie przeprowadzono z zachowaniem rygoru normy PN-EN ISO 22716:2009 oraz Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dla produktów kosmetycznych. Uproszczony schemat wdrożenia produktu kosmetycznego przedstawia Rysunek 14.



Rysunek 14 Zaplanowany schemat wdrożenia wyników badań w przedsiębiorstwie farmaceutycznym (własna koncepcja).

Na fazę eksperymentalną wdrożenia składały się wszystkie dotychczasowe prace niniejszej rozprawy doktorskiej – w szczególności związane z wyznaczeniem receptur i ich charakterystyk. Wyniki badań nad żelem propolisowym i kremem miodowym uznano za satysfakcjonujące i dobrze rokujące z perspektywy biznesowej, co pozwoliło na ich kwalifikację do kolejnych etapów wdrożenia.

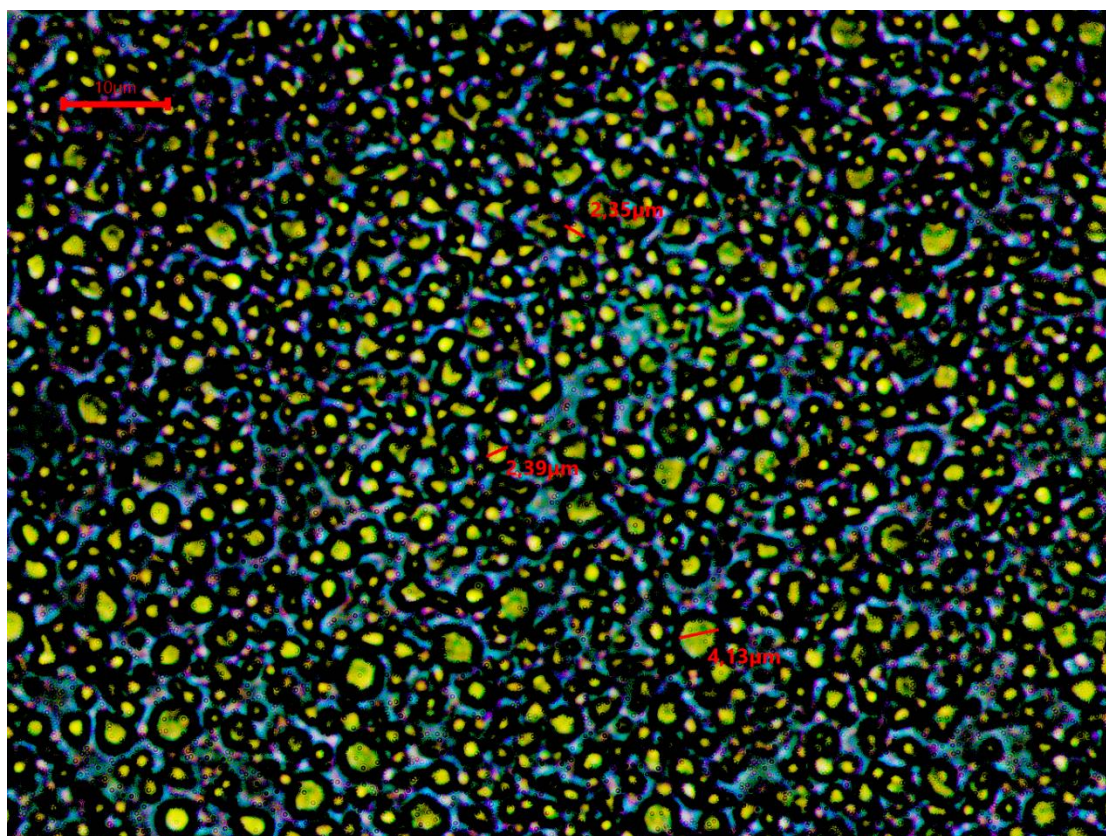
Faza laboratoryjna obejmowała produkcję i kontrolę powtarzalności trzech partii laboratoryjnych po 1,5 kg dla każdego z produktów, zgodnie z ustalonymi w protokołach recepturami i parametrami technologicznymi. Analizy parametrów kontrolnych w procesie obejmowały między innymi:

- ocenę sensoryczną (wygląd, kolor, zapach) wytworzonej masy produktu; kryteria akceptacji zostały ustalone w specyfikacjach **obu wdrażanych produktów** na podstawie cech mas wytworzonych jeszcze podczas fazy eksperymentalnej (Rysunek 15),



Rysunek 15 Wygląd wdrażanych mas: **po lewej** kremu zawierającego miód, **po prawej** organożelu propolisowego.

- analizę mikroskopową (Mikroskop BA 210 z aparatem Bresser Mikrocam SP 5.0; powiększenie 1000x) próbek **kremu zawierającego miód** pobranych z wyznaczonych etapów produkcji. Kryterium akceptacji stanowiło podobieństwo wykonanych zdjęć obrazujących charakter emulsji i wielkość kropeł. Obraz wzorcowy przedstawia rysunek 16,



Rysunek 16 Obraz mikroskopowy kremu typu O/W z dodatkiem miodu. Skala 10 μm .

- analizę lepkości **żelu propolisowego** przy użyciu wiskozymetru (Mettler Toledo Rheomat RM180, cylinder 3, tubus 3, $23\pm 1^{\circ}\text{C}$); kryterium akceptacji stanowiła lepkość przy prędkości ścinania 500 obr./s, mieszcząca się w zakresie od 1000 do 8000 cP po wstępnym, 30-sekundowym rozrzedzeniu ścinaniem.

Powtarzalność procesu została potwierdzona powyższymi badaniami. Uzyskana masa produktu została przeniesiona do opakowań zastępczych, które następnie zamknięto półautomatyczną zgrzewarką, oznaczono i przeznaczono do badań niezbędnych podczas komercjalizacji produktów kosmetycznych, takich jak:

- badań mikrobiologicznych, zgodnie z normą PN-EN ISO 17516; kryterium akceptacji: ogólna liczba mezofilnych mikroorganizmów tlenowych $\leq 1 \times 10^2 \text{CFU/g}$ oraz nieobecność w 1g szczepów *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*,

badzeń dermatologicznych, przeprowadzonych w oparciu o model patch testu wg Jadassohna-Blocha w modyfikacji Rudzkiego; kryterium akceptacji: brak rumienia, obrzęku, nacieku po 48 i 72 godzinach w miejscu aplikacji u wszystkich osób badanych.

- badań aplikacyjnych, kwestionariuszowych celem potwierdzenia oświadczeń charakteryzujących produkt; kryterium akceptacji: potwierdzenie oświadczeń przez minimum 51% osób ankietowanych,

- badań konserwacji, zgodnie z normą PN-EN ISO 11930:2019-03 (A); kryterium akceptacji: logarytm redukcji CFU/g w próbce dla szczepów bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ≥ 3 po 7, 14 i 28 dniach, szczepu *Candida albicans* ≥ 1 po 7, 14 i 28 dniach, szczepu *Aspergillus Brasiliensis* ≥ 0 po 14 dniach i ≥ 1 po 28 dniach,

- badań stabilności i kompatybilności z opakowaniem według metody wewnętrznej przedsiębiorstwa, obejmującego badanie w niskich i wysokich temperaturach ($2-35^{\circ}\text{C}$). Kryterium akceptacji: brak zmian wyglądu opakowania i masy kosmetycznej, w szczególności homogenności, jednolitości, zapachu, koloru.

- Oceny bezpieczeństwa obejmującej ocenę toksykologiczną produktu końcowego i jego poszczególnych składników, zgodnie z aktualnymi wytycznymi SCCS⁶⁸⁾. Kryterium akceptacji: pozytywna ocena zgodności z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 oraz spełnienie normy marginesu bezpieczeństwa (margines >100 , zgodnie z wytycznymi SCCS).

The image displays three Tisane Farm products. On the left is a blister pack of 'ŻEL PROPOLISOWY' (Propolis Gel) in a 'SUPERKONCENTRAT' (Superconcentrate) form, featuring a 90% propolis content and 'ALYCEL' technology. It lists benefits for skin regeneration and lists ingredients like propolis, vitamin E, and hyaluronic acid. The middle product is a tube of 'REGENERUJĄCY KREM DO RĄK' (Regenerating Hand Cream) with a 'FORMUŁA MIODOWA' (Bee Formula). On the right is the corresponding box for the hand cream, which also mentions 'DERMO' and 'regeneracja wyglądu naskórka' (skin appearance regeneration).

Kluczowym etapem prac wdrożeniowych była faza industrializacji, która obejmowała przeniesienie procesu wytwarzania i dozowania masy do tub na skalę przemysłową. W ramach próby technologicznej wyprodukowano masę produktu w ilości ponad 5 kg, co zapewniało bezproblemowy tryb pracy tubiarki E-250 Matic.



Do zasobnika tubiarki dostarczane były opakowania bezpośrednie, czyli tuby polietylenowe. W procesie wdrożenia testowane były parametry sterowane, w szczególności wartość nastawy dozy, prędkość stołu obrotowego oraz temperatury szczęk zgrzewających. Napełnione tuby ważono na wadze analitycznej i poddawano kontroli wizualnej. Kryteria akceptacji obejmowały: masę netto na poziomie co najmniej

6,0 g dla żelu propolisowego i 50,0 g dla kremu z miodem, szczelność opakowania oraz prawidłowy, równy wygląd zgrzewu.

Krem z zawartością miodu, wytworzony w technologii tradycyjnej spełnił wszystkie kryteria akceptacji do kolejnego etapu wdrożenia. Natomiast żel propolisowy odznaczał się tak wysoką lepkością, że wystąpiły trudności z zachowaniem kryterium akceptacji dozy ≥ 6 g. Podjęto 3 działania naprawcze:

- uwzględnienie rozrzedzenia ścinaniem 1500 obr/min w mieszalniku Stephan 12 l masy żelu bezpośrednio przed procesem konfekcji – redukcja lepkości została rozpoznana w fazie eksperymentalnej podczas wyznaczania profilu reologicznego dla organożelu,
- uwzględnienie „rozruchu” tubiarki poprzez początkowe ustawienie wyższej dozy i zawrócenia pierwszych 50-100 doz w celu pozbycia się wszelkich pęcherzy powietrza po przeniesieniu lepkiej masy do tubiarki,
- zmianę sposobu kontroli masy netto – z monitoringu na kompletną kontrolę wagi każdej napełnionej tuby.

Powyższe zmiany pozwoliły na spełnienie wcześniej ustalonych kryteriów akceptacji w próbie technologicznej i tym samym kwalifikację do etapu produkcji pełnoskalowej. Na tym etapie uzupełniono również wszystkie dokumenty systemu zapewnienia jakości w przedsiębiorstwie, w tym specyfikacje surowców, opakowań, produktu końcowego, raporty partii oraz instrukcje technologiczne.

W ostatnim etapie produkcji pełnoskalowej zdecydowano o uruchomieniu i komercjalizacji żelu propolisowego pod nazwą „Tisane Farm – żel propolisowy”, jako produktu kosmetycznego przeznaczonego do pielęgnacji skóry z niedoskonałościami (np. trądzikiem młodzieńczym). Termin komercjalizacji kremu z zawartością miodu wyznaczono na późniejszy okres, zgodnie ze strategią wdrożeń w przedsiębiorstwie.

Produkcja pełnoskalowa odbyła się zgodnie z obowiązującym w przedsiębiorstwie systemem zapewnienia jakości oraz wszystkimi dokumentami wydanymi podczas wcześniejszych etapów wdrożenia. Produkcja obejmowała:

- wytworzenie ekstraktu propolisowego (ustalona wydajność procesu $\geq 65\%$),
- wytworzenie masy żelu propolisowego (ustalona wydajność procesu $\geq 97\%$),
- konfekcję żelu propolisowego do opakowań jednostkowych (ustalona wydajność procesu $\geq 93\%$).

Wsad do ekstrakcji obejmował surowce w ilości 80 kg. Z tego pozyskano 60,94 kg ekstraktu propolisowego. Produkcja pierwszej partii obejmowała plan wytworzenia

9000 sztuk produktu (wsad surowcowy 54 kg). Finalnie, w procesie partii numer 032025 1 wytworzono 8484 sztuk produktu końcowego.

Produkt został zgłoszony w portalu CPNP i wprowadzony na polski rynek apteczny, co zakończyło proces komercjalizacji produktu opartego na technologii organożelu krzemionkowego, będącego jednym z przedmiotów niniejszej pracy doktorskiej.

4.6. Podsumowanie

Celem rozprawy doktorskiej było dobranie, zbadanie i skomercjalizowanie nowych technologii produktów zawierających surowce pszczele. W ramach prac nad doktoratem przeprowadzono badania nad różnymi technologiami zawierającymi surowce pszczele, w tym nad nieopublikowaną w niniejszej rozprawie pastą mukoadhezyjną zawierającą skoncentrowany ekstrakt propolisowy oraz hybrydową technologią pasty-kremu O/W z 10% zawartością miodu (w/w). W pracy opublikowano wyniki najciekawszych i najlepiej rokujących technologii do wdrożenia w przedsiębiorstwie: organożelu z ponad 90% (w/w) zawartością ekstraktu propolisowego oraz kremu O/W z 5-15% (w/w) zawartością miodu.

Dla receptury z propolisem osiągnięto następujące cele:

- dokonano przeglądu technologii zawierających propolis w multiwyszukiwarce usługi EBSCO Discovery Service, odnajdując i kategoryzując do poszczególnych grup technologicznych ponad 80 prac. Wyniki tego przeglądu posłużyły do przygotowania podsumowującej publikacji przeglądowej oraz stanowiły podstawę do dalszych prac eksperymentalnych,
- opracowano i opatentowano nową technologię organożelu krzemionkowego służącego do inkorporowania trudno rozpuszczalnych substancji czynnych. Przeprowadzenie licznych badań recepturowych umożliwiło określenie ram formulacyjnych zgłoszonego i opublikowanego patentu,
- scharakteryzowano nową technologię organożelu krzemionkowego poprzez badania strukturalne, stabilności fizycznej, reologiczne, badania uwalniania substancji aktywnej, a także badania dermatologiczne i przeciwdrobnoustrojowe. Wyniki badań zostały zaprezentowane i podsumowane w publikacji naukowej,
- całkowicie wdrożono technologię organożelu krzemionkowego zawierającego ponad 90% ekstraktu propolisowego (w/w). Skomercjalizowany produkt pod nazwą „Tisane Farm – żel propolisowy” został udostępniony na rynku jako

produkt kosmetyczny służący do pielęgnacji skóry z niedoskonałościami, takimi jak trądzik młodzieńczy.

Dla receptury z miodem osiągnięto następujące cele:

- zaprojektowano eksperyment z wykorzystaniem nowej receptury mającej ograniczać klejące odczucia po-aplikacyjne miodu. W eksperymencie z udziałem 24 ochotników zbadano wpływ miodu w stężeniu 0, 5, 10 i 15% (w/w) na parametry skóry, takie jak nawilżenie, elastyczność, transepidermalna utrata wody, gładkość, powierzchnia i głębokość zmarszczek. Kremy zawierające miód: 5, 10, 15% w/w znacząco poprawiały parametry skóry, podczas gdy krem placebo nie wykazywał takich efektów. Podwyższanie zawartości miodu w formulacji okazało się korzystnie wpływać na poziom nawilżenia skóry oraz zmniejszenie powierzchni i głębokości zmarszczek. Wyniki badań eksperymentalnych zostały przedstawione w publikacji naukowej,
- przeprowadzono w przedsiębiorstwie wdrożenie produktu „Tisane Dermo – regenerujący krem do rąk” opartego na badanej w eksperymencie recepturze kremu z zawartością miodu.

5. Bibliografia

- [1] Roberts, M. S.; Cheruvu, H. S.; Mangion, S. E.; Alinaghi, A.; Benson, H. A. E.; Mohammed, Y.; Holmes, A.; van der Hoek, J.; Pastore, M.; Grice, J. E. Topical Drug Delivery: History, Percutaneous Absorption, and Product Development. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2021**, *177*, 113923.
- [2] M. Marai, The Search for Wellbeing and Health, Archaeopress, 2023, 22–45.
- [3] Barel, A. O.; Paye, M.; Maibach, H. I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*; Informa Healthcare: New York, 2009, 121-134.
- [4] Surber, C.; Smith, E. W. The Mystical Effects of Dermatological Vehicles. *Dermatology* **2005**, *210*, 157–168.
- [5] Kalepu, S.; Nekkanti, V. *Acta Pharm. Sin. B* **2015**, *5* (5), 442–453.
- [6] Kim, H. S.; Sun, X.; Lee, J. H.; Kim, H. W.; Fu, X.; Leong, K. W. Advanced Drug Delivery Systems and Artificial Skin Grafts for Skin Wound Healing. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2019**, *146*, 209–239.
- [7] Tiwari, G.; Tiwari, R.; Bannerjee, S.; Bhati, L.; Pandey, S.; Pandey, P.; Sriwastawa, B. *Int. J. Pharm. Investig.* **2012**, *2* (1), 2–11.
- [8] Patravale, V. B.; Mandawgade, S. D. Novel Cosmetic Delivery Systems: An Application Update. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2008**, *30* (1), 19–33.
- [9] Vieira, G. S.; Lavarde, M.; Fréville, V.; Rocha-Filho, P. A.; Pensé-Lhéritier, A. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2020**, *42* (2), 156–166.
- [10] Kubiliene, L.; Laugaliene, V.; Pavilonis, A.; Maruska, A.; Majiene, D.; Barcauskaite, K.; Kubilius, R.; Kasparaviciene, G.; Savickas, A. *BMC Complement. Altern. Med.* **2015**, *15*, 156.
- [11] Boddupalli, B. M.; Mohammed, Z. N. K.; Nath, R. A.; Banji, D. Mucoadhesive Drug Delivery System: An Overview. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* **2010**, *1* (4), 381–387.
- [12] Hebbar, H. U.; Rastogi, N. K.; Subramanian, R. *Int. J. Food Prop.* **2008**, *11* (4), 804–819.
- [13] El Sohaimy, S. A.; Masry, S. H. D.; Shehata, M. G. *Ann. Agric. Sci.* **2015**, *60* (2), 279–287.
- [14] Hung, K. L. J.; Kingston, J. M.; Albrecht, M.; Holway, D. A.; Kohn, J. R. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **2018**, *285* (1870), 20180627.

- [15] Gupta, R. K.; Stangaciu, S. Apitherapy: Holistic Healing through the Honeybee and Bee Products in Countries with Poor Healthcare System. In *Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security: Vol. 1: Technological Aspects of Beekeeping*; Springer Netherlands, 2014; pp 413–446.
- [16] Pleeging, C. C. F.; Wagener, F. A. D. T. G.; de Rooster, H.; Cremers, N. A. J. Revolutionizing Non-Conventional Wound Healing Using Honey by Simultaneously Targeting Multiple Molecular Mechanisms. *Drug Resist. Updates* **2022**, *61*, 100810.
- [17] Bahari, N.; Hashim, N.; Md Akim, A.; Maringgal, B. Recent Advances in Honey-Based Nanoparticles for Wound Dressing: A Review. *Nanomaterials* **2022**, *12* (15), 2576.
- [18] Wang, J.; Li, Q. X. Chemical Composition, Characterization, and Differentiation of Honey Botanical and Geographical Origins. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *62*, 14002–14014.
- [19] Ashagrie Tafere, D. *J. Food Sci. Nutr. Res.* **2021**, *4* (3), 195–208.
- [20] Kędzia, B.; Hołderna-Kędzia, E. *Postępy Fitoterapii* **2017**, *18* (4), 290–297.
- [21] Isla, M.; Cordero, A.; Diaz, L.; Perez-Perez, M.E.; Vit, P. Cosmetic properties of honey. 1. Antioxidant activity. In *Stingless Bees Process Honey Pollen Cerumen Pots*; Universidad de los Andes: Mérida, Venezuela, 2013; pp. 1–8.
- [22] Maurya, S.; Kushwaha, A. K.; Singh, S.; Singh, G. An Overview on Antioxidative Potential of Honey from Different Flora and Geographical Origins. *Antioxidants* **2014**, *5* (1), 121–135.
- [23] Zulhendri, F.; Lesmana, R.; Tandean, S.; Christoper, A.; Chandrasekaran, K.; Irsyam, I.; Suwantika, A. A.; Abdulah, R.; Wathoni, N. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. *Molecules* **2022**, *27* (23), 8120.
- [24] Vynograd, N.; Vynograd, I.; Sosnowski, Z. A Comparative Multi-Centre Study of the Efficacy of Propolis, a Natural Immunomodulator, in the Treatment of Genital Herpes (HSV). *Phytomedicine* **2000**, *7* (1), 1–6.
- [25] Ota, C.; Unterkircher, C.; Fantinato, V.; Shimizu, M. T. Antifungal Activity of Propolis on Different Species of Candida. *Mycoses* **2001**, *44* (9–10), 375–378.
- [26] Almuhayawi, M. S. Propolis as a Novel Antibacterial Agent. *Saudi J. Biol. Sci.* **2020**, *27* (11), 3079–3086.
- [27] Mohammed, L.; Shaaban, S.; Abdul, M.; Shafeeq, A.; Mohamed, S. T. Effect of Propolis Compared with Metronidazole on Giardia Lamblia and Measurement of Secretory Immunoglobulin A (sIgA) in Intestinal Tissue for Experimental Mice. *Plant Archives* **2020**, *20*, 362–364.

- [28] Zulhendri, F.; Chandrasekaran, K.; Kowacz, M.; Ravalía, M.; Kripal, K.; Fearnley, J.; Perera, C. O. Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Antiparasitic Properties of Propolis: A Review. *Foods* **2021**, *10* (6), 1360.
- [29] Burdock, G. A. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis). *Food Chem. Toxicol.* **1998**, *36* (4), 347–363.
- [30] Huang, S.; Zhang, C. P.; Wang, K.; Li, G. Q.; Hu, F. L. Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules* **2014**, *19* (12), 19610–19632.
- [31] Jug, M.; Karas, O.; Kosalec, I. The Influence of Extraction Parameters on Antimicrobial Activity of Propolis Extracts. *Nat. Prod. Commun.* **2017**, *12* (1), 47–50.
- [32] Ramanauskiene, K.; Inkeniene, A. M.; Petrikaite, V.; Briedis, V. Total Phenolic Content and Antimicrobial Activity of Different Lithuanian Propolis Solutions. *Evid.-Based Complementary Altern. Med.* **2013**.
- [33] Alarjani, K. M.; Yehia, H. M.; Badr, A. N.; Ali, H. S.; Al-Masoud, A. H.; Alhaqbani, S. M.; Alkhatib, S. A.; Rady, A. M. Propolis-Loaded Liposomal Formulations: Evaluation of Physicochemical Properties and Antibacterial Potential. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (10), 2701.
- [34] Cora, M.; Buruk, C. K.; Ünsal, S.; Kaklikkaya, N.; Kolayli, S. Chemical Composition and Bioactivities of Different Propolis Types. *Chem. Biodivers.* **2023**, *20* (8), e202300123.
- [35] Cavdan, M.; Drewing, K. To Touch or Not to Touch: The Linkage between Viscosity and Unpleasantness. Eurohaptics.org. Dostęp online: <https://eurohaptics.org/ehc2024/wp-content/uploads/sites/5/2024/06/1020-doc.pdf> (dostęp 5 stycznia 2023).
- [36] Jamrógiewicz, M.; Milewska, K.; Lewandowska, K.; Czubak, K. Physicochemical Properties of Hydroxypropyl Methylcellulose-Based Films Containing Antifungal Agents. *Farm. Pol.* **2018**, *74* (2), 95–108.
- [37] Pearse, M. J.; Mackinlay, A. G. Biochemical Aspects of Syneresis: A Review. *J. Dairy Sci.* **1989**, *72* (6), 1401–1407.
- [38] A. Catarina, S. Marques, *Biometrologic Evaluation of Cosmetic Products*; Universidade de Coimbra 2016.
- [39] Suwiński, G.; Nowak, I. Physicochemical Characterization of Silica-Based Organogels for Dermal Applications. *Przem. Chem.* **2021**, *100* (6), 94–99.
- [40] Zahra, D.; Aatash, P.; Farzad, N.; Arghavan, T.; Shakeri, S. T. Evaluation of Antimicrobial Activity of Propolis-Based Gels. *Avicenna J. Phytomed.* **2015**, *5* (2), 113–119.
- [41] Aslani, A.; Malekpour, N. Formulation and Evaluation of Propolis-Containing Toothpaste. *Dent. Res. J.* **2016**, *13* (5), 484–493.

- [42] Guzmán-Oyarzo, D.; Plaza, T.; Recio-Sánchez, G.; Abdalla, D. S. P.; Salazar, L. A.; Hernández-Montelongo, J. Use of nPSi- β CD Composite Microparticles for the Controlled Release of Caffeic Acid and Pinocembrin, Two Main Polyphenolic Compounds Found in a Chilean Propolis. *Pharmaceutics* **2019**, *11*(6), 289.
- [43] Wang, T. C.; Appiah, B.; Bonku, E. M.; Yang, Z. H.; Luo, L. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Propolis Extracts. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2021**, *31*, 101883.
- [44] Kuzina, M. A.; Kartsev, D. D.; Stratonovich, A. V.; Levkin, P. A. Organogels versus Hydrogels: Advantages, Challenges, and Applications. *Adv. Funct. Mater.* **2023**, *33* (27), 2302511.
- [45] Mujawar, N. K.; Ghatage, S. L.; Yeligar, V. C. Organogel: factors and its importance. *Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci.* **2014**, *4*(3), 758-773.
- [46] Balata, G.; El Nahas, H. M.; Radwan, S. Development and Optimization of Propolis-Loaded Microemulsions for Enhanced Antifungal Activity. *Drug Deliv.* **2014**, *21* (1), 55–61.
- [47] Peter, V.; Mathew, F.; Joshy, T.; Anjusha, T. R. Formulation and Evaluation of Propolis Liposomes. *Int. J. Innov. Pharm. Sci. Res.* **2014**, *2*, 733–751.
- [48] Islam, M. T.; Rodríguez-Hornedo, N.; Ciotti, S.; Ackermann, C. Rheological Characterization of Topical Hydrogels Containing Antimicrobial Agents. *Pharm. Res.* **2004**, *21* (7), 1192–1199.
- [49] Patel, A. R.; Mankoč, B.; Bin Sintang, M. D.; Lesaffer, A.; Dewettinck, K. Organogels in Drug Delivery: A Strategic Approach. *RSC Adv.* **2015**, *5* (13), 9703–9708.
- [50] Osmalek, T.; Froelich, A.; Jadach, B.; Ancukiewicz, K.; Gadzinski, P. Novel Silica-Based Organogels for Transdermal Applications. *Curr. Drug Deliv.* **2018**, *15* (5), 686–697.
- [51] Suwiński, G. Composition of Organogel Containing Colloidal Silica and at Least One Organic Solvent. *Wiad. Urz. Patent.* **2022**, *43* (5).
- [52] Singappuli-Arachchige, D.; Slowing, I. I. Mesoporous Silica-Based Materials as Carriers for Drug Delivery: A Review. *J. Chem. Phys.* **2020**, *152* (3), 034708.
- [53] Scherer, G. W. Relaxation in Gel Structures: A Two-Part Study. I. Elastic and Viscous Behavior. *J. Non-Cryst. Solids* **1989**, *108* (1), 18–27.
- [54] Scherer, G. W. Relaxation in Gel Structures: A Two-Part Study. II. Microstructural Considerations. *J. Non-Cryst. Solids* **1989**, *108* (1), 28–36.
- [55] Scherer, G. W. Syneresis in Silica Gel. *MRS Online Proc. Libr.* **1988**, *121*, 179–186.

- [56] Wilhelm, S.; Kind, M. Gel Formation in Polymer Solutions: The Role of Solvent Quality and Molecular Weight. *Polymers* **2014**, *6*, 2896–2911.
- [57] Wilhelm, S.; Kind, M. Rheological and Structural Properties of Silica-Based Organogels. *Polymers* **2015**, *7*, 2504–2521.
- [58] Bruze, M.; Condé-Salazar, L.; Goossens, A.; Kanerva, L.; White, I. R. Thoughts on Sensitizers in a Standard Patch Test Series. *Contact Dermatitis* **1999**, *41* (5), 241–250.
- [59] Lu, L. C.; Chen, Y. W.; Chou, C. C. Antibacterial Activity of Propolis Against *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *102* (2), 213–220.
- [60] Tombs, E. L.; Nikolaou, V.; Nurumbetov, G.; Haddleton, D. M. Advanced Functional Polymers for Drug Delivery. *J. Pharm. Innov.* **2018**, *13* (1), 48–57.
- [61] Pavlačková, J.; Egner, P.; Slavík, R.; Mokrejš, P.; Gál, R. Utilization of Propolis Extract in Sustainable Cosmetics. *Molecules* **2020**, *25* (11), 2611.
- [62] Lodén, M. Effects of Moisturizers on Skin Barrier Function. *Allur. Cosm. and Toilet. Mag.*, **2001**; *116* (6), 31–40.
- [63] Saraf, G. J. Swarnlata. Advances in the Use of Propolis for Dermatological Applications. *J. Pharm. Drug Deliv. Res.* **2014**, *3* (1), 1–7.
- [64] Brown, T. M.; Krishnamurthy, K. Histology, Dermis. In *StatPearls*; StatPearls Publishing, USA, 2022. Dostęp online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/> (dostęp 12 listopad 2023).
- [65] Takada, M.; Ishikawa, Y.; Numano, K.; Hirano, S.; Imokawa, G. Molecular Insights into Skin Hydration and the Role of Natural Moisturizing Factors. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23* (21), 13555.
- [66] Farooq, U.; Mahmood, T.; Shahzad, Y.; Yousaf, A. M.; Akhtar, N. Evaluation of Moisturizing and Anti-Inflammatory Effects of Honey-Based Creams. *J. Cosmet. Dermatol.* **2018**, *17* (3), 454–460.
- [67] Dąbrowska, M.; Nowak, I. The Role of Honey in Skin Care: A Comparative Analysis of Its Cosmetic Applications. *J. Cosmet. Dermatol.* **2021**, *20* (3), 1022–1030.
- [68] Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation, 12th Revision; SCCS, 2023. Dostęp online: https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision_en (dostęp 14 sierpień 2024).

Traditional and innovative technologies of drug delivery systems for poorly water-soluble substance.

Case study on an example of propolis

Tradycyjne i nowatorskie technologie systemów dostarczania leku dla substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie. Studium przypadku na przykładzie propolisu

DOI: 10.15199/62.2021.6.12

A review, with 51 refs., of traditional and advanced technologies based on propolis, with particular emphasis on new forms of drugs such as mucoadhesive preparations, solid micro- and nanoparticles, microcapsules, microemulsions, liposomes, niosomes and phytosomes as well as organogels and electro-spun fibers. The attention was paid to their bioavailability, release rate and method of application.

Propolis to surowiec pochodzenia naturalnego, szeroko stosowany w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym. Żywny charakter wpływa na jego nierozpuszczalność w najczęściej stosowanych komercyjnie rozpuszczalnikach, takich jak woda i olej. W związku z tym stanowi doskonały materiał, który można wykorzystać do rozwoju nowych technologii formulacyjnych dla nierozpuszczalnych lub słabo rozpuszczalnych w wodzie substancji farmakologicznie czynnych. Przedstawiono i podsumowano stosowanie tradycyjnych oraz zaawansowanych

technologii opartych na propolisie, opisanych w dokumentach baz naukowych, ze szczególnym naciskiem na sekcję materiałów i metod.

Wprowadzenie hydrofobowej lub lipofobowej substancji aktywnej do leku, wyrobu medycznego, kosmetyku lub żywności stanowi w przemyśle znacznie większe wyzwanie technologiczne niż wprowadzenie substancji hydrofilowych lub lipofilowych. W literaturze naukowej spotyka się jednak coraz więcej rozwiązań tego problemu. Powstają liczne opracowania technologii i metod preparatywnych, które pozwalają na stworzenie dyspersji substancji hydrofobowej zbliżonej do roztworu rzeczywistego i charakteryzującej się jednorodnością wielkości cząstek zdyspergowanych, jednolitością rozproszenia cząstek w masie preparatu, stabilnością cząstek w masie preparatu i w środowisku aplikacji (np. w soku żołądkowym w przypadku postaci doustnych), maksymalną biodostępnością i zawartością dyspergowanej substancji aktywnej w masie preparatu. Tradycyjne technologie wytwarzania makrozawiesin, kompleksów solubilizacyjnych oraz makroemulsji ustępują technologiom zaawansowanym, umożliwiającym wytworzenie dyspersji w skali nano. Kalepu i Nekkanti¹⁾ zauważyli, że liczne zaawansowane technologie wprowadzania substancji aktywnej (np. micelle, stałe dyspersje, liposomy, mikroemulsje) są już wyko-



Mgr farm. Grzegorz SUWIŃSKI w roku 2015 ukończył studia farmaceutyczne na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Jest doktorantem w ramach programu „doktorat wdrożeniowy” w Zakładzie Chemii Stosowanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz pracuje w Zakładzie Chemiczno-Farmaceutycznym „Farmapol” w Poznaniu na stanowisku kierownika działu badań i rozwoju. Specjalność – technologie płynnych i półstałych postaci leku i kosmetyku.

* Autor do korespondencji:

Zakład Chemiczno-Farmaceutyczny „Farmapol” Sp. z o.o., ul. Św. Wojciech 29, 61-749 Poznań, tel.: 536-003-368, e-mail: grzegorz.suwiniski@farmapol.pl



Prof. dr hab. Izabela NOWAK w roku 1993 ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. W 1997 r. uzyskała stopień doktora chemii, w 2006 r. stopień doktora habilitowanego za badania nad syntezą, charakterystyką i katalitycznymi właściwościami nanoporowatych materiałów w procesach utleniania w fazie ciekłej, a w 2014 r. tytuł naukowy profesora nauk chemicznych. Jest kierownikiem Zakładu Chemii Stosowanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza (UAM) w Poznaniu. Od 2019 r. pełni także funkcję prezesa Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Specjalność – chemia stosowana, kataliza heterogeniczna, chemia kosmetyczna i farmaceutyczna.

rzystywane w celu poprawy cech produktów komercyjnych zawierających substancje trudno rozpuszczalne. Liczne zespoły badawcze za temat prac podjęły problematykę metod preparatywnych związanych z wprowadzeniem substancji trudno rozpuszczalnych do postaci leku oraz metod analitycznych umożliwiających prawidłową charakterystykę danej technologii^{2, 3)}.

Praca miała na celu przegląd technologii stosowanych do sporządzania preparatów zawierających substancje trudno rozpuszczalne w wodzie, na przykładzie propolisu jako naturalnej substancji aktywnej stosowanej w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym. Propolis jest bogatą mieszaniną fenoli, kwasów organicznych, witamin, wosków, minerałów, enzymów i olejków eterycznych, dzięki czemu wykazuje działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwgrzybicze, antyoksydacyjne, hepatoprotekcyjne, przeciwzapalne i regenerujące⁴⁾. Znaczenie kliniczne propolisu jako substancji farmakologicznie aktywnej wzrasta dzięki jego naturalnemu pochodzeniu. Co więcej, propolis w licznych badaniach wykazuje nawet większą skuteczność działania niż syntetyczne odpowiedniki stosowane w danej aplikacji, np. w trądziku⁵⁾, opryszcze narządów płciowych⁶⁾ lub opryszcze warg⁷⁾. Szeroki zakres działania propolisu sprawia, że jest on chętnie wykorzystywany w stomatologii do ochrony szkliwa i leczenia ubytków⁸⁾.

Metodyka pracy

W celu wytypowania spośród dostępnych baz naukowych reprezentatywnej grupy dokumentów, przegląd baz naukowych przeprowadzono z wykorzystaniem multiwyszukiwarki w usłudze EBSCO Discovery Service. Zebrane tam prace przyporządkowano do odpowiednich grup technologicznych (rysunek). W przypadku technologii hybrydowych, uwzględniających w preparatyce zastosowanie łącznie kilku grup technologicznych, decydująca w klasyfikacji była technologia końcowa, charakteryzująca ostateczną postać leku. Na uwagę zasługuje fakt, że aż 80 opisów technologicznych zostało opublikowanych w ciągu ostatniej dekady. Zauważalny jest również wzrostowy trend liczby publikowanych dokumentów w czasie.

Technologie tradycyjne

Technologie komercyjnie klasyczne z punktu widzenia przemysłu są zwykle preferencyjną, tanią i technicznie optymalną metodą produkcji. Zazwyczaj nie wymagają zaawansowanej aparatury preparatywnej z uwagi na prostotę fizyczno-chemicznych procesów zachodzących w mieszalnikach i homogenizatorach. Przykładowo, w przypadku emulsji będzie to zwiększanie stopnia dyspersji fazy rozproszonej pod wpływem ciepła i dużych sił ścinających homogenizatora, a w przypadku hydrożeli rozwijanie i hydratacja łańcuchów polimeru, uzyskane w wyniku mieszania. Wśród komercyjnie dostępnych na polskim rynku aptecznym preparatów z propolisem dominują płyny oraz maści typu W/O. Pomimo intensywnego rozwoju technologii zaawansowanych, w literaturze wciąż pojawiają się nowe opracowania związane z technologiami tradycyjnymi. Jednym

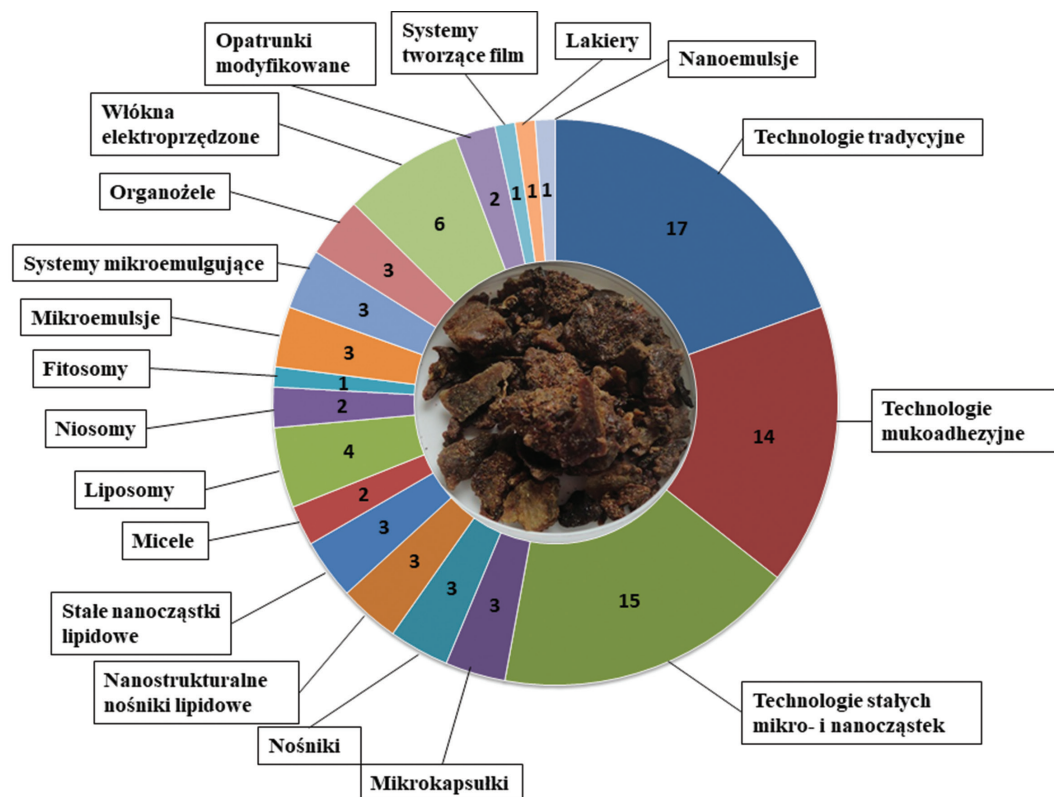


Figure. Quantitative distribution of scientific papers listed in EBSCO Discovery Service Multi-Search due to the technology used in the preparation of the drug delivery system containing propolis

Rysunek. Ilościowe przedstawienie prac naukowych notowanych w multiwyszukiwarce usługi EBSCO Discovery Service ze względu na zastosowaną technologię w preparatyce systemu dostarczania leku zawierającego propolis

z najciekawszych dokumentów wartych uwagi w tym zestawieniu jest badanie przeprowadzone przez zespół Żiliusa⁹⁾, w którym porównano uwalnianie kwasów fenolowych propolisu z leku i przenikanie przezskórne *in vitro* z 3 tradycyjnych postaci maściowych: maści lipofilowej, kremu W/O i hydrożelu. Zespół wykazał, że największe kumulatywne uwalnianie kwasów fenolowych zachodzi z hydrożelu, a penetracja substancji aktywnych do naskórka i skóry właściwej z postaci kremu W/O. Zaproponowano, że na skuteczność penetracji mogła mieć wpływ maceracja naskórka z udziałem wody dostarczonej w kremie W/O przy jednoczesnej okluzji obniżającej poziom transepidermalnej utraty wody. Ciekawym przykładem aplikacyjnego wykorzystania propolisu w formułacjach tradycyjnych może być badanie kliniczne przeprowadzone przez Arenbergera i współpracowników⁷⁾. Porównano w nim pomadkę opracowaną w formułacji emulsji W/O zawierającą 0,5% mas. ekstraktu z propolisu z kremozemem O/W zawierającym 5% mas. acyklowiru. Badanie przeprowadzono na 379 pacjentach z opryszczką wargową. Pomadka z propolisem wykazała większą skuteczność w leczeniu skórnych objawów opryszczki niż preparat z acyklowirem, średnio przyspieszając poprawę o 1 dzień w stosunku do formułacji z samym acyklowirem. Balata i współpracownicy¹⁰⁾, zmieniając stężenia poszczególnych składników emulsji typu O/W, badali profil uwalniania propolisu z przygotowanych maści. Wykazano, że korzystniejsze jest zastosowanie palmitynianu izopropylu niż parafiny ciekłej z uwagi na intensywniejszy i stabilniejszy (kinetyka 0-rzędu) profil uwalniania. Dalsze badania szybkości regeneracji ran przeprowadzone na szczurach laboratoryjnych linii Wistar wykazały szybsze wygojenie się ran po zastosowaniu formułacji emulsji O/W (4% mas. ekstraktu z propolisu) niż czystego ekstraktu z propolisu. Zaproponowano, że efekt ten może powodować długotrwała okluzja w połączeniu z powolnym dostarczaniem leku. Ostatnim przykładem wartym uwagi są dwie publikacje z 2020 r. zespołu Said Dos Santos^{11, 12)}, w których do optymalizacji formułacji zastosowano koncepcję projektowania eksperymentu DoE (*design of experiment*) zwizualizowanego metodą powierzchni odpowiedzi dla zmiennych zależnych. Zmienne badane stanowiły parametry tekstury przygotowanych emulsji z ekstraktem propolisowym, opartych na karbomerze i trzech olejach naturalnych.

Dodatkowo weryfikowano przenikanie do naskórka i skóry właściwej formułacji metodą fotoakustyczną. Wykazano, że propolis z pierwszej ekstrakcji miał największy wpływ na zwartą strukturę emulsji z uwagi na wytrącanie się substancji żywicznych w emulsji. Udowodniono także, że technologia emulsji O/W sprawdza się jako postać dermatologiczna dla propolisu, wykazując dobrą penetrację do skóry właściwej, ale zachowując jednocześnie profil przedłużonego uwalniania.

Technologie mukoadhezyjne

Technologie mukoadhezyjne stosuje się do wytwarzania produktów służących do przedłużonego kontaktu z błonami śluzowymi. Preparaty z propolisem oparte na tej technologii znajdują najwięcej zastosowań w stomatologii i ginekologii z uwagi na bakterio-, grzybo- i wirusobójcze działanie propolisu. Znane są liczne formy mukoadhezyjne: tabletki, proszki, żele, pasty i filmy. Łączy je duża zawartość polimeru wykazującego zdolność adhezji do błony śluzowej. Wśród najczęściej stosowanych polimerów mukoadhezyjnych wymienia się pochodne celulozy, karbomery, pektyny, alginiany i chitozan. Zjawisko mukoadhezji opisano licznymi teoriami oddziaływania molekularnego, takimi jak sieciowanie i powstawanie wiązań wodorowych na powierzchni styku śluzówki i uwodnionego polimeru¹³⁾. Badania doświadczalne są dowodem na istotę doboru odpowiedniej formułacji do danego zastosowania. Przykładowo, dyfuzja kofeinianu 2-feniloetylu (CAPE, składnik propolisu) przez spreparowaną błonę śluzową była 36 razy większa w przypadku żelu mukoadhezyjnego opartego na hydroksyprometylocelulozie (HPMC) niż w przypadku etanolowego ekstraktu propolisowego¹⁴⁾. Z punktu widzenia preparatyki technologii mukoadhezyjnych duże znaczenie ma także wpływ użytych składników na siłę mukoadhezji i parametry tekstury. Berretta i współpr.¹⁵⁾ przygotowali kilka żeli mukoadhezyjnych opartych na różnych polimerach w połączeniu z ekstraktem propolisowym i badali m.in. siłę mukoadhezji. Spośród polimerów, takich jak karbopol (karbomer), karbopol i poloksamer; alginian i pektyny; chitozan i hydroksyetyloceluloza, największą siłą przylegania do błony śluzowej charakteryzował się żel karbomerowy. Z kolei Borges i współpr.¹⁶⁾ wykazali pozytywny wpływ propolisu na właściwości filmu mukoadhezyjnego zbudowanego z kolagenu, żelatyny, sorbitolu i ekstraktu propolisowego. Film propolisowy w porównaniu z filmem placebo wykazał większą siłę mukoadhezji oraz spowolniony czas pęcznienia w wodzie. Spośród postaci mukoadhezyjnych opisywanych w literaturze najliczniejszą grupę stanowiły postaci żelu termowrażliwego, przygotowanego z użyciem poloksameru i karbopolu (karbomeru). W przypadku temperatury żelowania bliskiej temperaturze ciała możliwe jest przygotowanie łatwego w aplikacji płynu, który żeluje i utrzymuje się w miejscu działania. Płyn dostarczany jest np. za pomocą irygatora (irygacja dopochwowa) lub strzykawki dentystycznej. Interesujące badanie przeprowadził zespół Fabri¹⁷⁾, który scharakteryzował żele termowrażliwe z ekstraktem propolisowym lub z cytrynianem sildenafilu. Dla różnych proporcji karbopolu i poloksameru badano temperaturę żelowania, profil reologiczny i siłę mukoadhezji. Co ciekawe, profil uwalniania cytrynianu sildenafilu był gwałtowny, a propolis wykazywał profil przedłużonego uwalniania. Może to być spowodowane słabą rozpuszczalnością propolisu w wodzie (w przeciwieństwie do dobrze rozpuszczalnego cytrynianu sildenafilu).

Technologie stałych mikro- i nanocząstek

Dyspersje stałych mikro- i nanostruktur zawierające propolis znalazły zastosowanie w technologii mikrocząstek, nanocząstek, mikrośfer, mikrokapsulek, stałych cząstek nośnikowych, nanostrukturalnych nośników lipidowych NLC (*nanostuctured lipid carriers*) oraz stałych nanocząstek lipidowych SLN (*solid lipid nanoparticles*). Bardzo liczne opracowania literaturowe substancji słabo rozpuszczalnych mają swoje uzasadnienie z uwagi na poprawę stopnia dyspersji substancji aktywnej, zwiększenie biodostępności i tym samym skuteczności działania farmakologicznego. Na problemy związane z technologią stałych nanocząstek składać się mogą m.in. wyższe koszty produkcji oraz niepożądane

zjawiska destabilizacji, takie jak agregacja cząstek¹⁸⁾. Pomimo różnic w preparatyce mikro- i nanocząstek, technologie te charakteryzuje się podobnymi metodami analitycznymi, określającymi efektywność enkapsulacji, indeks polidispersji, potencjał zeta, wielkość cząstek, kształt i strukturę, profil kalorymetrii różnicowej, widmo IR i profil uwalniania. W preparatyce mikro- i nanocząstek często wykorzystywana jest aparatura, w której możliwe jest rozbitcie cząstek frakcji nierozpuszczalnej na drobiny wielkości 10–1000 nm. Do tego celu stosowane są m.in. ultrawydajne homogenizatory mechaniczne, sonikatory lub połączenie tych dwóch metod homogenizacji. Wykorzystywane są także techniki preparatywne z udziałem wyparek rotacyjnych, suszarek rozpyłowych lub liofilizatorów. Jednym z najprostszych przykładów w technologii nanocząstek może być preparatyka zaproponowana przez Kazemi i współpr.¹⁹⁾. Przefiltrowany ekstrakt etanolowy z propolisu poddali oni liofilizacji, rozpuścili w 70-proc. etanolu i poddali 20-minutowej sonikacji, otrzymując w ten sposób nanocząstki propolisu o średnicy poniżej 100 nm. Ten rodzaj preparatyki przygotowania form nano jest bardzo interesujący z punktu widzenia zmiany skali procesu z laboratoryjnej na produkcyjną, ze względu na małą liczbę etapów procesu. Mając na uwadze korzyści wynikające ze zmodyfikowanego profilu uwalniania z nano- i mikrocząstek, nie sposób nie wspomnieć o pracy zespołu Elbaz²⁰⁾, w której zastosowano zaawansowaną, hybrydową preparatykę nanocząstek wewnątrz mikrocząstek. Nanocząstki otrzymywane były różnymi metodami, celem skontrolowania wpływu ich rodzaju na ostateczny profil uwalniania. Przykładowo, ekstrakt etanolowy z propolisu połączono z poloksamerem i acetonem, a następnie dodawano kroplami do wody. Po odparowaniu acetonu, zawieszinę nanocząstek liofilizowano. Drugi rodzaj nanocząstek otrzymano, mieszając etanolowy ekstrakt z propolisu z kopolimerem kwasu mlekowego i glikolowego oraz z acetonem. Mieszaninę dodawano kroplami do wodnego roztworu alkoholu poliwinylowego (2% mas./obj.), po czym całość poddano sonikacji i pozostawiono do odparowania acetonu. W celu otrzymania mikrocząstek oba rodzaje nanocząstek umieszczono w wodnym roztworze chitozanu (0,1% mas./obj.), a następnie poddano suszeniu rozpyłowemu, otrzymując nanocząstki z propolisem zawarte w mikrocząstkach. Kolejną interesującą metodą pozyskiwania nanocząstek jest nanoprecypitacja zaproponowana przez zespół Nascimento²¹⁾. Polikaprolakton wraz z etanolowym ekstraktem propolisowym stanowiły fazę olejową, zaś wodny roztwór poloksameru fazę wodną. Wkrapając 0,5 mL fazy olejowej do 50 mL fazy wodnej, wytworzono nanocząstki. Inną nowatorską metodę otrzymywania hybrydowych nanocząstek propolisowo-srebrnych zaproponował zespół İlka²²⁾, który wykorzystał redukcję srebra z AgNO₃ za pomocą roztworu NaBH₄. Etanolowy ekstrakt z propolisu dodano do wodnego roztworu azotanu srebra i tak przygotowaną mieszaninę wprowadzono do roztworu borowodoru sodu, intensywnie mieszając. Otrzymano hybrydowe nanocząstki wielkości poniżej 50 nm, które w badaniach mikrobiologicznych wykazywały większą aktywność bakteriobójczą od nanocząstek srebra i ekstraktu etanolowego oddzielnie. Przykładem wykorzystania liofilizacji i suszenia rozpyłowego może być praca zespołu Şturma²³⁾. Badacze sprawdzali wpływ wymienionych metod i różnych nośników, takich jak guma arabska, inulina i maltodekstryna, na parametry charakterystyki mikrocząstek. Wskazali na wyższy stopień enkapsulacji dla metody liofilizacji niż suszenia rozpyłowego.

Mikrokapsułki

Spośród stałych mikrocząstek można wyróżnić mikrokapsułki, różniące się od innych mikrocząstek tym, że stałą postać przybiera jedynie powłoka zewnętrzna, podczas gdy wewnętrzna część pozostaje w stanie ciekłym. Najczęściej w preparatyce mikrokapsulek wykorzystywane są roztwory alginianowe lub chitozanowe. W pracy Keskin²⁴⁾ przedstawiono sposób otrzymywania mikrokapsulek. W roztworze etanolu (30% obj.) rozpuszczono 1% (mas./obj.) alginianu sodu, następnie do mieszaniny dodano etanolowy ekstrakt propolisowy i całość zhomogenizowano. Mikrokapsułki uzyskano poprzez wkrapianie tak przygotowanej mieszaniny do roztworu chlorku wapnia (0,05 M). Następnie osad mikrokapsulek odfiltrowano i suszono próżniowo. Wydajności inkapsulacji wynosiła ponad 99%.

Nośniki

Technologie oparte na wykorzystaniu nośnika, w przeciwieństwie do innych technologii nanocząstek, nie bazują na wytrąceniu frakcji nośnej *in situ*, lecz na dodaniu takiej frakcji podczas preparatyki. Dla propolisu zaproponowano zarówno nośniki proste, takie jak pyłek pszczeły, jak i bardziej zaawansowane, jak krzemionki mezoporowate. Jednak na największą uwagę zasługuje praca Guzmán-Oyarzo i współpr.²⁵⁾, którzy zaproponowali bardzo zaawansowaną preparatkę prowadzącą do otrzymania nanostrukturalnego krzemu zawierającego polifenole propolisu. W tym celu wafel krzemowy oczyszczono kilkustopniową sonikacją. Następnie wytrawiono powierzchnię kwasem fluorowodorowym w etanolu (w stosunku 1:2), po czym przeprowadzono elektropolerowanie tej powierzchni. Warstwa mikroporowata została następnie odcięta ostrzem diamentowym, zmielona, zhomogenizowana i utleniona za pomocą H_2O_2 (30% obj.). Tak uzyskany krzem nanostrukturalny zanurzono w zakwaszonym roztworze wodnym chitozanu (1% mas./obj.) i przemyto etanolem. Krzem z chitozaniem zanurzano w roztworze monomerów β -cyklodekstryny z diwodorofosforanem(V) sodu i kwasem cytrynowym. Z tak wytworzonego polimeru β -cyklodekstryny uzyskano makrostrukturę zawierającą mikrostruktury nanokrystaliczne. Do takich makrostruktur dodano polifenole propolisu i przeprowadzono dalsze badania charakteryzujące technologię, w tym badania uwalniania substancji aktywnej.

Nanostrukturalne nośniki lipidowe

Wytwarzanie nanostrukturalnych nośników lipidowych (NLC) to technologia bazująca na procesie emulgacji, różniąca się od tradycyjnych metod tworzenia emulsji zastosowaniem ultrawydajnej homogenizacji. Soleimani i współpr.²⁶⁾ przeprowadzili badania eksperymentalne z wykorzystaniem wosku propolisowego do otrzymania NLC jako nośnika dla innych substancji aktywnych. W tym celu wosk propolisowy, olej z pestek granatu i lecytynę jako fazę olejową oraz roztwór Tween 80 jako fazę wodną podgrzano do 80–85°. Następnie fazę wodną wkraplano w tej temperaturze do fazy olejowej, mieszano i homogenizowano, a później sonifikowano. W ten sposób otrzymano nanostrukturę o wielkości 71–366 nm. Technologia ta wykorzystuje jedynie frakcję lipofilową propolisu, ale z uwagi na jej interesującą charakterystykę, została uwzględniona w tym zestawieniu.

Stałe nanocząstki lipidowe

Stałe nanocząstki lipidowe (SLN) zyskują coraz większą popularność. Od NLC różnią się tym, że wewnątrz emulgowanej nanokropki znajduje się wyłącznie lipidowa frakcja stała. Dla SLN z propolisem zaproponowano dwa rodzaje metod preparatywnych. Pierwsza polega na homogenizacji w 75°C frakcji lipidowej (tristearyna, ekstrakt propolisowy) i frakcji wodnej (woda, poloksamer) za pomocą sonikatora²⁷⁾. Druga polega na użyciu lotnych rozpuszczalników, fazę olejową stanowią lecytyna, ekstrakt propolisowy, monostearynian glicerolu i dichlorometan, zaś fazę wodną Tween 80 i PEG 400 w roztworze wodnym. Fazę olejową wkraplano do fazy wodnej i mieszano w celu emulgacji i odparowania rozpuszczalnika²⁸⁾. Nieznacznie mniejsze nanostrukturę otrzymano za pomocą drugiej metody.

Technologie pęcherzykowe

Micele

Micele to pęcherzyki zbudowane z kolistych agregatów surfaktantu, w których fragment hydrofilowy znajduje się na zewnątrz agregatu, a łańcuch lipofilowy skierowany jest do wnętrza. Hydrofobowe substancje farmakologicznie aktywne ułożone są w wewnętrznej części miceli. Dla propolisu zaproponowano preparatkę z użyciem amfifilowych polimerów blokowych, takich jak: politlenek etylenu-poliakrylan *n*-butylu²⁹⁾ lub politlenek etylenu (26)-politlenek propylenu (40)-politlenek etylenu (26)³⁰⁾. W pierwszym przypadku polimer oraz

ekstrakt propolisowy były rozpuszczane w etanolu, po czym do mieszaniny dodawano wodę. W drugim przypadku do etanolowego ekstraktu z propolisu dodawano wodę z polimerem. Następnie w obu tych preparatach odpędzono etanol zawarty w mieszaninie za pomocą wyparki rotacyjnej. Micele otrzymane pierwszą metodą były nieco większe (ok. 50 nm) niż micele otrzymane metodą drugą (ok. 20 nm).

Pęcherzyki dwuwarstwowe: liposomy, niosomy, fitosomy

Jednym z najbardziej popularnych sposobów wprowadzenia substancji farmakologicznie aktywnych są technologie pęcherzyków zbudowanych z podwójnej błony lipidowej. Rozmiary pęcherzyków wynoszące kilkadziesiąt–kilkaset nanometrów oraz możliwość fuzji pęcherzyka z błoną komórkową sprawiają, że są one chętnie wykorzystywane jako nośniki leków o dużej biodostępności. Liczba różnorodnych zaawansowanych technologii pęcherzykowych wykorzystywanych w medycynie wciąż rośnie. Zespół Chacko w pracy³¹⁾ z 2020 r. wymienia aż 14 podgrup technologicznych pęcherzyków wykorzystywanych w dermatologii. Różnice zauważalne są najczęściej w preparatyce oraz użytych w niej składnikach, przy czym każda technologia pęcherzykowa charakteryzuje się nieco odmiennymi cechami. W zestawieniu przedstawiono technologie pęcherzyków zawierających propolis: liposomy, niosomy i fitosomy. Jedną z najprostszych preparatywnie i najczęściej wykorzystywanych metod pozyskiwania pęcherzyków jest metoda wstrzykiwania etanolu (*ethanol injection method*), która polega na wkraplaniu etanolowego roztworu składników błony lipidowej (fosfolipidy, cholesterol) i substancji aktywnej do fazy wodnej, z jednoczesnym mieszanym roztworu wodnego. Aby poprawić parametry indeksu polidispersji, wydajności enkapsulacji oraz wielkości pęcherzyków, zaproponowano różne modyfikacje tej metody. Refaat i współpr.³²⁾ zaproponowali metodę wtryskiwania etanolowego roztworu fosfolipidów, cholesterolu i ekstraktu propolisowego do roztworu sacharozy (9% mas./obj.) w temp. 80°C, w której następowało momentalne odparowanie etanolu. Zespół badał metodą powierzchni odpowiedzi wpływ różnych proporcji składników na parametry otrzymywanych liposomów, w tym na indeks polidispersji i wielkość liposomów. Inną modyfikacją preparatyki jest metoda zaproponowana przez zespół Aytekin³³⁾. W tej modyfikacji fosfolipidy, cholesterol i ekstrakt propolisowy rozpuszczono w etanolu i to do tej mieszaniny dodawano kroplami wodę oczyszczoną (układ chroniono przed odparowaniem etanolu). Następnie uzyskaną frakcję liposomalną odwirowano od reszty roztworu, rozcieńczono wodą i poddano sonikacji. Tą metodą otrzymano łącznie kilka różnych formułacji liposomów, dla których następnie oznaczono wielkość pęcherzyków, potencjał zeta i indeks polidispersji.

Podczas gdy liposomy charakteryzuje dwuwarstwa złożona z fosfolipidów (surfaktantów amfoterycznych), to w dwuwarstwie niosomów znajdują się surfaktanty niejonowe. Niosomy otrzymywane są podobnymi technikami preparatywnymi i charakteryzowane analogicznymi metodami analitycznymi. W pracy İlhan-Ayisigi i współpr.³⁴⁾ wykorzystano metodę wstrzykiwania eteru. Do mieszaniny Tweenu i cholesterolu rozpuszczonego w eterze dietylowym dodawano ekstrakt propolisowy oraz wodny roztwór buforu fosforanowego, a następnie mieszaninę poddawano sonikacji. Otrzymane niosomy były odwirowywane od roztworu, przepłukiwane i liofilizowane. Jeszcze innymi metodami otrzymywane są fitosomy, strukturalnie analogiczne do liposomów. W przeciwieństwie do liposomów, w których substancja aktywna zlokalizowana jest wewnątrz pęcherzyka, w fitosomach jest ona związana w kompleksie z fosfatydylocholiną. Zespół Permana³⁵⁾ wykorzystał metodę uwodnienia filmu w procesie otrzymywania fitosomów. W tym celu ekstrakt etanolowy z propolisu, fosfatydylocholinę i cholesterol rozpuszczono w metanolu i odparowano rozpuszczalniki w wyparce obrotowej. Tak otrzymany film zadano wodą i poddano homogenizacji i sonikacji. Do uzyskanej w ten sposób dyspersji fitosomów dodano maltodekstrynę i poddano liofilizacji.

Mikroemulsje i systemy mikroemulgujące

Wśród metod służących do wprowadzania substancji trudno rozpuszczalnych do wody można wskazać tworzenie mikroemulsji oraz systemów mikroemulgujących, które służą do wytworzenia mikroemulsji

in situ. Mikroemulsje charakteryzują się występowaniem fazy wodnej, olejowej i układu emulgującego. Przy czym układ emulgujący występuje w stężeniach wielokrotnie wyższych niż w przypadku klasycznych emulsji. W charakterystyce mikroemulsji i systemów mikroemulgujących najważniejszą rolę odgrywają diagramy fazowe, na których wskazywany jest obszar procentowego udziału faz, w obrębie którego wytworzona jest mikroemulsja. Žiljuss³⁶⁾ zaproponował mikroemulsje złożone z PEG-8 glicerydów kwasu kaprylowego i kapronowego jako surfaktantu, etanolu jako kosurfaktantu, mirystynianu izopropylu jako fazy olejowej oraz wody jako fazy wodnej. W wariancie z propolisem, przygotowano etanolowy ekstrakt z propolisu, zastępujący etanol jako kosurfaktant. W celu wytworzenia mikroemulsji zastosowano metodę rozcieńczania oleju, tj. do mieszaniny wody, surfaktantu i kosurfaktantu, mieszając, wkraplano olej do momentu wytworzenia mlecznej emulsji. Dla tego stężenia oleju wykreślano obszar mikroemulsji. Badania charakteryzujące technologię polegały na określeniu indeksu polidispersji, wielkości kropeł i stabilności. Z przeprowadzonych badań wynikało, że zastąpienie etanolu ekstraktem propolisowym ma niewielki wpływ na zwiększenie wielkości kropeł i nieznaczne obniżenie indeksu polidispersji. Systemy mikroemulgujące z użyciem propolisu to stosunkowo nowe w świecie naukowym charakterystryki. Wszystkie trzy prace opublikowane zostały po 2019 r. Przykładowo, Marquale-Oliveira i współpr.³⁷⁾ zaproponowali system mikroemulgujący składający się z ekstraktu propolisowego i eterycznego olejku cynamonowego (faza olejowa, 13,5% mas.), mono- i diglicerydów średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (surfaktant, 11% mas.) oraz makroglu 400 (kosurfaktant 75,5% mas.). Składniki były dodawane kolejno do ekstraktu propolisowego, a mieszanina była homogenizowana. Uzyskany w ten sposób układ posłużył następnie do nasączenia membran celulozowych oraz do dalszych badań. Liczne formułacje mikroemulgujące zostały opracowane przez zespoły Wanga³⁸⁾ i Syukri³⁹⁾. Formułacje zawierające różne ilości różnych surowców zastosowanych jako surfaktant, kosurfaktant oraz olej były badane pod kątem potencjału zeta, wielkości kropeł i stabilności.

Organożele

Organożele są obecnie szeroko badaną i rozwijaną grupą technologiczną. W przeciwieństwie do hydrożeli, fazę ciągłą stanowi tu ciecz organiczna. Z kolei za sieciowanie odpowiadają różnorodne żelatory, małowcząsteczkowe lub polimerowe. Żelowanie może przebiegać przy udziale różnych procesów i zjawisk chemicznych i fizycznych, takich jak tworzenie wiązań sieciujących polimeru lub fizyczne uporządkowanie struktur małowcząsteczkowych⁴⁰⁾. Liczba potencjalnych kombinacji substancji zdyspergowanych i rozpuszczalników jest znacznie większa niż w przypadku hydrożeli. Stąd bierze się ogromna różnorodność cech poszczególnych typów organożeli. W farmacji często wykorzystywane są organożele typu PLO (*pluronic-lecithin organogel*), z uwagi na stosunkowo prostą preparatykę i promocję wchłaniania przezskórnego dzięki składnikom formułacji. W technologii organożelu typu PLO utworzono liczne formułacje zawierające substancje trudno rozpuszczalne w wodzie, m.in. formułację zawierającą propolis. Lecytynę rozpuszczono w palmitynianie izopropylu (faza olejowa), poloksamer zdyspergowano w wodzie i wstawiono do lodówki do całkowitego rozpuszczenia. Następnie etanolowy ekstrakt z propolisu rozpuszczono w makroglu 400 i dodano do fazy olejowej. Fazę olejową dodawano do fazy wodnej i mieszano. W ten sposób wytworzono organożel typu PLO, sieciowany przez wytworzenie cylindrycznych micel w medium organicznym⁴¹⁾. Warto nadmienić, że propolis lub jego frakcja woskowa wykorzystywane są w wytwarzaniu organożeli zawierających inne substancje farmakologicznie aktywne. Przykład takiego sieciowania organożelu opartego na oleju z pestek granatowca woskiem propolisowym zaproponowali Fayaz i współpr.⁴²⁾.

Opatrunki

Włókna elektroprzędzone

Kolejną grupą technologiczną intensywnie rozwijaną w ostatnich latach są włókna elektroprzędzone. W procesie ich produkcji można

inkorporować substancję farmakologicznie aktywną trudno rozpuszczalną w wodzie. W ten sposób poprawiana jest biodostępność danej substancji przy jednoczesnym kontrolowanym uwalnianiu. Technologia elektroprzędzenia jest obecnie rozwijana w kierunku poprawy wydajności produkcyjnej. Polega ona na wytworzeniu struktury nano- lub mikrowłókien z inkorporowaną substancją aktywną w wyniku wyciągania takich włókien pod wpływem wysokiego napięcia. W tym celu rozpuszczony (najczęściej w rozpuszczalniku organicznym) polimer wraz z substancją aktywną wypuszczany jest ze stałą prędkością z dyszy przędzalniczej. Pomiędzy dyszą a uziemionym kolektorem wytwarzane jest wysokie napięcie, które przewyższa siły napięcia powierzchniowego. W ten sposób wyciągane jest włókno, z którego momentalnie odparowuje rozpuszczalnik⁴³⁾. Do badań jakościowych otrzymanych włókien służą techniki potwierdzające skład włókien (spektroskopia FTIR), ich wielkość i strukturę (mikroskopia SEM), badania uwalniania oraz badania charakterystryczne dla danego zastosowania substancji aktywnej (np. badania mikrobiologiczne). Propolis, ze względu na działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne i przyspieszające regenerację skóry, znalazł liczne zastosowania jako substancja inkorporowana we włókna pełniące funkcję opatrunku. W takim przypadku włókna nanoszone są na materiał podstawowy, np. polipropylen. Taką produkcję nitek z wykorzystaniem etanolowego roztworu poliwinylpirolidonu i propolisu zaproponowali Adomavičiute i współpr.⁴⁴⁾. Z kolei Alberti i współpr.⁴⁵⁾ udowodnili, że polimer i propolis mogą być otrzymane w wysokiej temperaturze z roztworu wodno-etanolowego lub wodnego z dodatkiem makroglu 400. Wodno-etanolowy roztwór alkoholu poliwinylowego dodawano do wodno-etanolowego ekstraktu propolisu i taki roztwór poddawano elektroprzędzeniu. Jeszcze inny sposób preparatyki włókien elektroprzędzonych zaproponowali Khoshnevisan i współpr.⁴⁶⁾. W tym przypadku elektroprzędzeniu poddawano roztwór octanu celulozy i polikaprolaktanu w mieszaninie acetonu z kwasem octowym. Dopiero tak otrzymane włókna po uprzednim przemyciu, pozostawiono na 1 dobę do namoczenia w etanolowym ekstrakcie z propolisu. Inkorporacja substancji aktywnej odbywała się w tym przypadku metodą immersji, a nie w trakcie elektroprzędzenia.

Opatrunki modyfikowane

Propolis, z uwagi na cenne właściwości przeciwbakteryjne i regeneracyjne, znalazł zastosowanie w zaopatrywaniu ran. Zaproponowano opatrunki modyfikowane ekstraktem z propolisu. Takie opatrunki czerpią z tradycyjnych technologii płynu, jednak z uwagi na strukturyzację postaci leku zapewniają przez włókna opatrunku, możliwe jest zastosowanie nowych, ciekawych rozwiązań. Przykładowymi technikami nanoszenia ekstraktu propolisowego mogą być immersja w roztworze etanolowym lub rozpylanie ekstraktu na powierzchni opatrunku⁴⁷⁾. Modyfikacje technologii otrzymywania opatrunków zaproponowali Sharaf i El-Naggar⁴⁸⁾. Otrzymali oni kationizowany opatrunek bawełniany powlekany hydrożelem z ekstraktem propolisowym. Hydrożel został przygotowany w 85°C poprzez mieszanie i dodawanie kroplami etanolowego ekstraktu propolisowego do roztworu β -cyklodekstryny. Następnie taki roztwór dodawano kroplami i mieszano z roztworem κ -karagenianu. Na koniec dodano roztwór gliksalu celem usieciowania hydrożelu. Z kolei bawełna była przygotowana poprzez zanurzenie jej w roztworze IV-rzędowej soli amoniowej, 2-krotne przepłukanie i wysuszenie w 80°C. Tak otrzymana bawełna była następnie wielokrotnie zanurzana w roztworze wcześniej przygotowanego hydrożelu i suszona w temp. 80°C aż do uzyskania grubej warstwy powlekającej. Opatrunki badano m.in. pod kątem działania przeciwbakteryjnego metodą krążkowo-dyfuzyjną.

Inne technologie

Wśród technologii proponowanych dla propolisu znalazły się także pojedyncze, równie ciekawe prace preparatywne, nie zaklasyfikowane do żadnej z wcześniej wymienionych grup. Wśród technologii używanych w stomatologii, obok postaci mukoadhezyjnych można wymienić lakiery nanoszone bezpośrednio na szkliwo zęba. Taka przykładowa formułacja lakieru z propolisem została zaproponowana przez Franca i współpr.⁴⁹⁾.

W celu otrzymania takiego lakieru zastosowano następującą preparatykę: w 25-proc. etanolowym ekstrakcie z propolisu rozpuszczono kolejno etanol, kwas octowy, chitozan i uzupełniono formułą wodą, uzyskując stężenia propolisu 5–15% (mas./obj.) oraz stężenie etanolu 60% obj. Taki lakier o stężeniu propolisu 15% (mas./obj.) wykazywał długotrwałe uwalnianie substancji aktywnej z postaci leku oraz właściwości inhibicyjne i bakteriobójcze w stosunku do biofilmu bakterii odpowiedzialnych za próchnicę podobne do właściwości chlorheksydyny w stężeniu 0,12% mas. Nawiązując do form mukoadhezyjnych, warto wskazać na technologię zaproponowaną przez zespół Rosseto⁵⁰⁾ opartą na systemie tworzącym film FFS (*film forming system*). Jest to formuła analogiczna do termoaktywnego żelu mukoadhezyjnego, z tą jednak różnicą, że FFS jest przeznaczony do stosowania na skórę, a nie błony śluzowe. W preparacie tej postaci najpierw tworzona jest mieszanina dyspersji karbopolu i przygotowanego uprzednio w chłodzie roztworu poloksameru. Po połączeniu mieszanina poddawana jest żelowaniu za pomocą trietyloaminy. Do takiego żelu kroplami dodawany jest etanolowy ekstrakt propolisowy. W eksperymencie z różnymi zmiennymi (stężenie propolisu, rodzaj polimeru) zastosowano wizualizację wyników metodą powierzchni odpowiedzi dla badanych parametrów tekstury i temperatury żelowania. Ostatnią technologią wartą uwagi jest nanoemulsja otrzymana metodą emulacji z inwersją faz. Polega ona na tym, że do fazy olejowej (olej słonecznikowy, Span 80, Tween 80, etanolowy ekstrakt z propolisu) dodawano łącznie 84% mas. wody. Proces prowadzono w temp. 75°C, mieszając z prędkością zaledwie 600 rpm. W toku dodawania wody dochodziło do odwrócenia faz i powstania kropelek olejowych wielkości ok. 50 nm i wartości indeksu polidispersji 0,25⁵¹⁾.

Podsumowanie

Jeszcze kilka dekad temu zakres dostępnych technologii pozwalających na wprowadzenie trudno rozpuszczalnej substancji aktywnej do postaci leku był bardzo ubogi. Obecnie rozwój różnorodnych technik preparatywnych jest na tyle duży, że możliwe staje się nie tylko skuteczne rozpuszczenie substancji aktywnej i zwiększenie jej biodostępności, ale także kontrolowane są inne parametry, takie jak szybkość uwalniania, rodzaj aplikacji i sposób produkcji. Opracowanie ma na celu wsparcie naukowe technologów i chemików w doborze technologii odpowiedniej do aplikacji i warunków produkcyjnych danej postaci farmaceutycznej, kosmetycznej lub spożywczej. Rozwój nowoczesnych technologii pozwala na znamienią poprawę poszczególnych cech jakościowych, skuteczności działania i innowacyjnego charakteru produktu, a tym samym na zwiększenie konkurencyjności danej firmy. Proces wdrażania i zwiększania skali (*scale-up*) technologii w przemyśle jest szczególnie istotny z uwagi na zwiększenie dostępności konsumentom produktów charakteryzujących się wyższą niż dotychczas jakością. Rozłam pomiędzy odkryciami naukowymi a dostępnością produktów opartych na nowych technologiach jest szczególnie zauważalny w przypadku preparatów z propolisem. Pomimo obecnie panującego trendu w stosowaniu produktów naturalnych, wykorzystanie nowych technologii jest wciąż marginalne.

Otrzymano: 22-04-2021

LITERATURA

- [1] S. Kalepu, V. Nekkanti, *Acta Pharm. Sin. B* 2015, **5**, nr 5, 442.
- [2] S. Sareen, L. Joseph, G. Mathew, *Int. J. Pharm. Investig.* 2012, **2**, nr 1, 12.
- [3] D. Bhowmik, G. Harish, S. Duraivel, B.P. Kumar, V. Raghuvanshi, K.P. Sampath, *Pharma Innov.* 2012, **1**, nr 12, 24.
- [4] S.I. Anjum, A. Ullah, K.A. Khan, M. Attaullah, H. Khan, H. Ali, M.A. Bashir, M. Tahir, M.J. Ansari, H.A. Ghranah, N. Adgaba, C.K. Dash, *Saudi J. Biol. Sci.* 2019, **26**, nr 7, 1695.
- [5] V. Mazzarello, M.G. Donadu, M. Ferrari, G. Piga, D. Usai, S. Zanetti, M.A. Sotgiu, *Clin. Pharmacol.* 2018, **10**, 175.
- [6] N. Vynograd, I. Vynograd, Z. Sosnowski, *Phytomedicine* 2000, **7**, nr 1, 1.
- [7] P. Arenberger, M. Arenbergerova, M. Hladiková, S. Holcova, B. Ottlinger, *Curr. Ther. Res.* 2018, **88**, 1.
- [8] F. Zuhendi, R. Felitti, J. Fearnley, M. Ravalía, *J. Oral Biosci.* 2021, **63**, nr 1, 23.
- [9] M. Žilius, K. Ramanauskienė, V. Briedis, *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2013, **2013**, 1.
- [10] G.F. Balata, H.A.E.M. Shamardl, H.M. Abd Elmoneim, A.A. Hakami, M.A. Almodhwah, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2018, **44**, nr 11, 1797.
- [11] R. Said dos Santos, H.C. Rosseto, J. Bassi da Silva, C.F. Vecchi, W. Caetano, M.L. Bruschi, *J. Mol. Liq.* 2020, **307**, 112969.
- [12] R. Said dos Santos, C.F. Vecchi, H.C. Rosseto, J. Bassi da Silva, M.E.L. Dano, L.V. de Castro-Hoshino, M.L. Baesso, M.L. Bruschi, *AAPS PharmSciTech* 2020, **21**, nr 6, 1.
- [13] B. Chatterjee, N. Amalina, P. Sengupta, U.K. Mandal, *J. Appl. Pharm. Sci.* 2017, **7**, nr 5, 195.
- [14] G.C. Ceschel, P. Maffei, A. Sforzini, S. Lombardi Borgia, A. Yasin, C. Ronchi, *Fitoterapia* 2002, **73**, 44.
- [15] A.A. Berretta, P.A. de Castro, A.H. Cavaleiro, V.S. Fortes, V.P. Bom, A.P. Nascimento, F. Marquele-Oliveira, V. Pedrazzi, L.N.Z. Ramalho, G.H. Goldman, *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2013, **2013**, 1.
- [16] J.G. Borges, R.A. Carvalho, *J. Pharm. Sci.* 2015, **104**, nr 4, 1431.
- [17] F.V. Fabri, R.R. Cupertino, M.M. Hidalgo, R.M. Monteiro Weffort De Oliveira, M.L. Bruschi, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2011, **37**, nr 12, 1446.
- [18] A.P. Gadad, S.V.V. Kumar, P.M. Dandagi, U.B. Bolmol, N.P. Pallavi, *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech.* 2014, **7**, nr 3, 2509.
- [19] F. Kazemi, A. Divsalar, A.A. Saboury, *Int. J. Biol. Macromol.* 2018, **109**, 1329.
- [20] N.M. Elbaz, I.A. Khalil, A.A. Abd-Rabou, I.M. El-Sherbiny, *Int. J. Biol. Macromol.* 2016, **92**, 254.
- [21] T.G. do Nascimento, P.F. da Silva, L.F. Azevedo, L.G. da Rocha, I.C.C. de Moraes Porto, T.F.A. Lima E Moura, I.D. Basilio-Júnior, L.A.M. Grillo, C.B. Dornelas, E.J. da S. Fonseca, E. de Jesus Oliveira, A.T. Zhang, D.G. Watson, *Nanoscale Res. Lett.* 2016, **11**, nr 1, 301.
- [22] S. İlk, G. Tan, E. Emül, N. Sağlam, *Turkish J. Med. Sci.* 2020, **50**, nr 4, 1147.
- [23] L. Šturm, I.G. Osojnik Črnivec, K. Istenič, A. Ota, P. Megušar, A. Slukan, M. Humar, S. Levic, V. Nedović, R. Kopinč, M. Deželak, A. Pereyra Gonzales, N. Poklar Ulrih, *Food Bioprod. Process.* 2019, **116**, 196.
- [24] M. Keskin, S. Keskin, S. Kolaylı, *LWT – Food Sci. Technol.* 2019, **108**, 89.
- [25] D. Guzmán-Oyarzo, T. Plaza, G. Recio-Sánchez, D.S.P. Abdalla, L.A. Salazar, J. Hernández-Montelongo, *Pharmaceutics* 2019, **11**, nr 6, 1.
- [26] Y. Soleimani, S.A.H. Goli, S.M. Sahafi, J. Varshosaz, *Food Chem.* 2018, **244**, 83.
- [27] H.C. Rosseto, L. de A.S. de Toledo, L.M.B. de Francisco, E. Esposito, Y. Lim, G. Valacchi, R. Cortesi, M.L. Bruschi, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2017, **158**, 441.
- [28] B. Afra, M. Mohammadi, M. Soleimani, R. Mahjub, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2020, **46**, nr 7, 1163.
- [29] P.D. Petrov, G. Grancharov, V. Gancheva, B. Trusheva, V. Bankova, C.B. Tsvetanov, *Polymer (Guildf)* 2017, **125**, 102.
- [30] V. Tzankova, D. Aluani, Y. Yordanov, M. Kondeva-Burdina, P. Petrov, V. Bankova, R. Simeonova, V. Vitcheva, F. Odjakov, A. Apostolov, B. Tzankov, K. Yoncheva, *Rev. Bras. Farmacogn.* 2019, **29**, nr 3, 364.
- [31] I.A. Chacko, V.M. Ghate, L. Dsouza, S.A. Lewis, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2020, **195**, 111262.
- [32] H. Refaat, Y.W. Naguib, M.M.A. Elsayed, H.A.A. Sarhan, E. Alaaeldin, *Pharmaceutics* 2019, **11**, 11.
- [33] A.A. Aytikin, S. Tuncay Tannirverdi, F. Aydın Köse, D. Kart, İ. Eroğlu, Ö. Özer, *J. Liposome Res.* 2020, **30**, nr 2, 107.
- [34] E. İlhan-Ayisigili, F. Ulucan, E. Saygılı, P. Sağlam-Metiner, S. Gulce-Iz, O. Yesil-Celiktas, *J. Sci. Food Agric.* 2020, **100**, nr 8, 3525.
- [35] A.D. Permana, R.N. Utami, A.J. Courtenay, M.A. Manggau, R.F. Donnelly, L. Rahman, *J. Photochem. Photobiol. B* 2020, **205**, 111846.
- [36] M. Žilius, K. Ramanauskienė, V. Juškaite, V. Briedis, *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2016, **2016**, 1.
- [37] F. Marquele-Oliveira, H. da Silva Barud, E.C. Torres, R.T.A. Machado, G.F. Caetano, M.N. Leite, M.A.C. Frade, S.J.L. Ribeiro, A.A. Berretta, *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, **136**, 570.
- [38] T.C. Wang, B. Appiah, E.M. Bonku, Z.H. Yang, L. Luo, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2021, **31**, 1.
- [39] Y. Syukri, A. Fitria, S. Hanifah, M. Idrati, *Adv. Pharm. Bull.* 2021, **11**, nr 1, 120.
- [40] C.L. Esposito, P. Kirilov, V.G. Roullin, *J. Control. Release* 2018, **271**, 1.
- [41] G. Balata, H.M. El Nahas, S. Radwan, *Drug Deliv.* 2014, **21**, nr 1, 55.
- [42] G. Fayaz, S.A.H. Goli, M. Kadivar, F. Valoppi, L. Barba, C. Balducci, L. Conte, S. Calligaris, M.C. Nicoli, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2017, **119**, nr 10, 1.
- [43] P. Vass, E. Szabó, A. Domokos, E. Hirsch, D. Galata, B. Farkas, B. Démuth, S.K. Andersen, T. Vigh, G. Verreck, G. Marosi, Z.K. Nagy, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2020, **12**, nr 4, 1.
- [44] E. Adomavičiute, S. Stanys, M. Žilius, V. Juškaite, A. Pavilonis, V. Briedis, *Biomed Res. Int.* 2016, **2016**, 1.
- [45] T.B. Alberti, D.S. Coelho, M. de Prá, M. Maraschin, B. Veleirinho, *J. Mater. Sci.* 2020, **55**, nr 23, 9712.
- [46] K. Khoshnevisan, H. Maleki, H. Samadian, M. Doostan, M.R. Khorramzadeh, *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, **140**, 1260.
- [47] B. Rogina-Car, J. Rogina, E. Govorčin Bajsić, A. Budimir, *J. Ind. Text.* 2020, **49**, nr 8, 1100.
- [48] S. Sharaf, M.E. El-Naggar, *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, **133**, 583.
- [49] J.R. Franca, M.P. De Luca, T.G. Ribeiro, R.O. Castilho, A.N. Moreira, V.R. Santos, A.A.G. Faraco, *BMC Complement. Altern. Med.* 2014, **14**, 478.
- [50] H.C. Rosseto, L. de A.S. de Toledo, R. Said dos Santos, L.M.B. de Francisco, C.F. Vecchi, E. Esposito, R. Cortesi, M.L. Bruschi, *J. Mol. Liq.* 2021, **322**, 114514.
- [51] J.B. Seibert, J.P. Bautista-Silva, T.R. Amparo, A. Petit, P. Pervier, J.C. dos Santos Almeida, M.C. Azevedo, B.M. Silveira, G.C. Brandão, G.H.B. de Souza, L.F. de Medeiros Teixeira, O.D.H. dos Santos, *Food Chem.* 2019, **287**, 61.

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **241552**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **437757**

(22) Data zgłoszenia: **30.04.2021**

(51) Int.Cl.

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 47/04 (2006.01)

A61K 47/10 (2017.01)

B01J 13/00 (2006.01)

(54)

**Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną
oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

14.02.2022 BUP 07/22

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

24.10.2022 WUP 43/22

(73) Uprawniony z patentu:

**PRZEDSIĘBIORSTWO FARMACEUTYCZNE
FARMAPOL SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Poznań, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

GRZEGORZ SUWIŃSKI, Przeźmierowo, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Mariusz Kondrat

PL 241552 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny.

Organożele stanowią grupę technologiczną żeli, w których fazę ciągłą stanowi ciecz organiczna, a fazę rozproszoną polimer lub cząsteczki sieciujące. Organożele stanowią obecnie jedną z najbardziej rozwijanych grup technologicznych z obszaru postaci farmaceutycznych do użytku zewnętrznego – w szczególności dla celów preparatyki systemów transdermalnych, dostarczania substancji czynnych ogólnoustrojowo. Organożele są wykorzystywane również w innych segmentach przemysłu – na przykład w ogólnie pojętym przemyśle chemicznym, spożywczym czy kosmetycznym. Każda z grup klasyfikacji strukturalnej organożeli charakteryzuje się specyficznymi właściwościami fizykochemicznymi – w zależności od użytego czynnika żelującego oraz użytego medium fazy ciągłej.

Pomimo tego, pełna charakterystyka organożelu opartego na krzemionce koloidalnej i polarnym rozpuszczalniku organicznym nie została jeszcze opisana w literaturze. Najbliższą charakterystykę literaturową przedstawiono między innymi dla organożelu opartego na krzemionce koloidalnej i rozpuszczalniku niepolarnym oraz jego połączeniu z hydrożelem tworząc biżel (*Patel AR, Mankoč B, Bin Sintang MD, Lesaffer A, Dewettinck K. Fumed silica-based organogels and 'aqueous-organic' bigels. RSC Adv 2015; 5: 9703–9708*). Publikacja autorstwa Patel i współpracowników przedstawia zastosowanie zmatowionej krzemionki koloidalnej (hydrofitowe cząstki koloidalnej krzemionki) do wytworzenia układów miękkiej materii na bazie rozpuszczalników triglicerydów (organożele i biżele). Przy czym, krzemionkę wykorzystano jako strukturant żelujący rozpuszczalnik triglicerydów, którym był olej roślinny. Krzemionka zmatowiona działa jako środek zwiększający lepkość. Właściwości nadające lepkość olejowi przez zmatowioną krzemionkę są dobrze znane (przypisywane tworzeniu się sieci 3D w ciekłym oleju), a zatem zmatowiona krzemionka jest często stosowana do kontroli reologii olejów mineralnych i roślinnych. W omawianej publikacji wykazano, że tworzenie się żelu jest możliwe nawet przy stężeniach zmatowionej krzemionki koloidalnej $\geq 10\%$ wag., jeśli zmatowiona krzemionka jest równomiernie rozproszona.

Z europejskiego opisu zgłoszeniowego **EP3766904 A1** znana jest kompozycja organożelu zawierająca jeden lub więcej rozpuszczalników organicznych; jeden lub więcej akrylanów, korzystnie w ilości 1–25% wag.; i jeden lub więcej dodatków funkcjonalnych, takich jak krzemionka. Przy czym, jeden lub więcej dodatków funkcyjnych stanowi od 1 do 10% wag. kompozycji.

Z publikacji autorstwa Osmalek i współpracownicy znana jest kompozycja organożelu do przenoszenia substancji aktywnych zawierająca 0,5% meloksycamu, w której składnikami formującymi strukturę były krzemionka koloidalna oraz komercyjnie dostępny rozpuszczalnik SynperonicTM PE/L 62 (tj. Poloxamer 182). Natomiast Arlasolve®, Transcutol®, etanol i DMSO zastosowano jako solubilizatory i potencjalne wzmacniacze wchłaniania przez skórę. Preferowanym rozpuszczalnikiem był Transcutol® (Osmalek T, Froelich A, Jadach B, Ancukiewicz, Gadzinski P. Rheological Characteristics of Novel Meloxicam-Loaded Complex Organogels Based on Fumed Silica and Poloxamer. *Curr Drug Deliv.* 2018; 15(5): 686–697).

Natomiast z międzynarodowego opisu zgłoszeniowego **WO2005082516 A1** znany jest sposób wytwarzania organożelu obejmujący: łączenie kompatybilizatora i dodatku w postaci cząstek z rozpuszczalnikiem organicznym, w którym dodanie kompatybilizatora i dodatku w postaci cząstek zwiększa lepkość rozpuszczalnika organicznego z utworzeniem organożelu. Przy czym, wspomniany dodatek może stanowić krzemionka.

Celem wynalazku było opracowanie nowej kompozycji przeznaczonej jako postać do dostarczania substancji aktywnych, w szczególności substancji aktywnych trudno rozpuszczalnych w wodzie i w olejach.

Istotą wynalazku jest kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny, charakteryzująca się tym, że zawiera co najmniej jedną substancję aktywną, wodę, organiczną albo nieorganiczną substancję stanowiącą zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego, natomiast krzemionkę koloidalną stanowi krzemionka koloidalna hydrofitowa, a co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny stanowi ciekły, polarny rozpuszczalnik organiczny wybrany z grupy obejmującej glikole, propano-1,2-diol, propano-1,3-diol, 2-metyl-1,3-propanodiol, 1,3-butanodiol, 1,4-butanodiol, 1,2-pentanodiol, 1,5-pentanodiol, 1,2-heksanodiol, przy czym pH kompozycji wynosi od 5 do 9.

Korzystnie powierzchnia właściwa krzemionki koloidalnej wynosi od 200 do 380 m²/g.

Korzystnie rozpuszczalnik organiczny jest rozpuszczalnikiem o niskiej masie cząsteczkowej, zawierającym 2–6 atomów węgla.

Korzystnie substancja aktywna wybrana jest z grupy obejmującej substancje przeciwwirusowe, substancje przeciwbakteryjne, substancje przeciwgrzybicze, substancje przeciwsłoneczne, substancje miejscowo znieczulające, substancje przeciwzapalne, substancje przeciwbólowe.

Korzystnie kompozycja 0,01–5% wag. organicznej albo nieorganicznej substancji stanowiącej zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego; 2–20% wag. wody; 6–12% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej; 29,99%–91,98% wag. co najmniej jednego rozpuszczalnika organicznego oraz 0,01–50% wag. jednej lub więcej substancji dodatkowych wybranych z grupy obejmującej stabilizatory synergezy, regulatory lepkości, substancje aktywne, regulatory pH lub ich kombinacje.

Korzystnie kompozycja zawiera 8–10% wag. krzemionki koloidalnej.

Korzystnie kompozycja zawiera 80–92% wag. rozpuszczalnika organicznego.

Korzystnie kompozycja zawiera 0,1 do 2% wag. organicznej lub nieorganicznej substancji stanowiącej zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego.

Korzystnie kompozycja zawiera 0,01–20% wag. co najmniej jednego regulatora lepkości.

Korzystnie regulator lepkości jest wybrany z grupy obejmującej glicerynę lub ciekłe glikole polietylenowe wykazujące lepkość kinematyczną powyżej 105 mm²/s przy 20°C.

Korzystnie kompozycja zawiera 0,01–20% stabilizatora synergezy.

Korzystnie stabilizator synergezy stanowi alkohol etylowy.

Korzystnie kompozycja zawiera regulator kwasowości.

Wynalazek dostarcza następujących korzyści:

- umożliwia wprowadzenie do postaci leku lub kosmetyku substancje aktywne trudno rozpuszczalne w wodzie lub w olejach niepolarnych;
- wykazuje charakterystykę podobną do popularnych komercyjnie hydrożeli karbomerycznych w ujęciu preparatyki wytwarzania, transformacji reologicznej i korzystnego profilu reologicznego;
- wykazuje niskie ryzyko kontaminacji mikrobiologicznej;
- wykazuje termostabilność w podwyższonej temperaturze;
- wykazuje zdolność do rozpuszczania wysokich stężeń substancji aktywnych, trudno osiągalnych w tradycyjnych technologiach postaci leku lub kosmetyku;
- charakteryzuje się prostotą procesu produkcyjnego, bez potrzeby stosowania zaawansowanej aparatury lub dodatkowych czynników żelujących (np. temperatura, podwyższone ciśnienie). Proces produkcyjny może być wykonywany w jednym mieszalniku, co wpływa na efektywność kosztu i wydajność produkcji. Ponadto prostota procesu wytworzenia umożliwia uzyskanie detalicznych ilości leku lub kosmetyku (np. leki recepturowe w aptekach otwartych lub szpitalnych).
- umożliwia dobór odpowiednich rozpuszczalników będących promotorami wchłaniania substancji aktywnych z postaci organożelu;
- cechuje się relatywnie niskim kosztem surowców bazy organożelu.

Wynalazek przedstawiono w przykładach wykonania na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia wizualne zmiany właściwości kompozycji według przykładu 4 w wyniku transformacji reologicznej; fig. 2 przedstawia profile zależności siły ścinania od prędkości ścinania przed i po transformacji reologicznej organożelu według przykładu 4 pod wpływem zasady, gdzie A) przedstawia profil organożelu przed transformacją, B) przedstawia profil organożelu po transformacji; fig. 3 przedstawia konsystencję organożelu według przykładu 6.

Poniższe przykłady wykonania stanowią jedynie nieograniczające przykładowe warianty kompozycji według wynalazku. Przy czym, wszystkie opisane poniżej procedury doświadczalne przeprowadzono z zastosowaniem komercyjnie dostępnych odczynników i aparatury, postępując zgodnie z zaleceniami producentów stosowanych zestawów, odczynników i aparatury, o ile nie wskazano wyraźnie inaczej. Wszelkie parametry testowe mierzono z zastosowaniem standardowych, powszechnie znanych metod stosowanych w dziedzinie, do której należy niniejszy wynalazek. Pomiar pH jest realizowany metodą potencjometryczną w temperaturze pokojowej, przy użyciu skalibrowanego aparatu Hanna Instruments 221.

Ponadto wszystkie składniki użyte do sporządzenia kompozycji według wynalazku są dopuszczone do kontaktu ze skórą organizmu ludzkiego. Natomiast zastosowane maksymalne stężenia każ-

dego ze składników kompozycji według wynalazku nie wykazują działania toksycznego wobec organizmu ludzkiego ani zwierzęcego.

Przykład 1

Kompozycja organożelu według wynalazku stanowi bazę recepturową/technologię służącą do wprowadzania substancji aktywnych, szczególnie tych trudno rozpuszczalnych. Minimalny skład kompozycji obejmuje krzemionkę koloidową hydrofitową, wodę, organiczną albo nieorganiczną substancję stanowiącą zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego (dalej zwana „zasadą” w rozumieniu wynalazku) oraz rozpuszczalnik organiczny, który stanowi ciekły, polarny rozpuszczalnik organiczny złożony z minimum 2 atomów węgla, który w strukturze chemicznej zawiera przynajmniej jeden atom węgla związany z atomem tlenu grupy hydroksylowej, karbonylowej, karboksylowej, alkoksylowej lub estrowej oraz przynajmniej jeden nie podstawiony atom węgla grupy alifatycznej.

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

krzemionkę koloidalną hydrofitową (o powierzchni właściwej 200 m²/g) w ilości 12% wag.;

2-metyl-1,3-propanediol w ilości 80,5% wag.;

kwas mlekowy w ilości 0,5% wag.;

wodę w ilości 2% wag.;

trietyloaminę w ilości 5% wag.;

a jej pH wynosi 8,34.

Przy czym, w tym nieograniczającym przykładzie wykonania krzemionkę koloidalną hydrofitową stanowi krzemionka o powierzchni właściwej wynoszącej 200 m²/g. Natomiast można zastosować również krzemionki o innych powierzchniach właściwych (np. 380 m²/g).

Przy czym, w tym nieograniczającym przykładzie wykonania jako rozpuszczalnik organiczny zastosowano 2-metyl-1,3-propanediol. Natomiast w kompozycji według wynalazku można zastosować również inne rozpuszczalniki organiczne spełniające przesłankę polarnego rozpuszczalnika złożonego z minimum 2 atomów węgla, który w strukturze chemicznej zawiera przynajmniej jeden atom węgla związany z atomem tlenu grupy hydroksylowej, karbonylowej, karboksylowej, alkoksylowej lub estrowej oraz przynajmniej jeden nie podstawiony atom węgla grupy alifatycznej, tj. np. propano-1,2-diol, propano-1,3-diol, 2-metyl-1,3-propanediol, 1,3-butanediol, 1,4-butanediol, 1,2-pentanediol, 1,5-pentanediol, 1,2-heksanediol.

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania jako zasadę wykorzystano trietyloaminę. Natomiast jako zasadę można stosować również inne zasady organiczne zawierające do 6 atomów węgla (np. inne aminy).

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania wykorzystano wodny roztwór kwasu mlekowego (20% wag./wag.) stanowiący regulator pH w rozumieniu wynalazku, w celu ustanowienia pH w zakresie od 5 do 9. Natomiast jako regulator pH można stosować również inne substancje o odczynie kwasowym, na przykład kwas octowy, kwas cytrynowy, kwas borowy.

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania woda została dodana w postaci roztworu wraz z regulatorem pH. Natomiast wodę w rozumieniu wynalazku można również dodawać samodzielnie lub w postaci mieszaniny z innym składnikiem kompozycji.

Sposób przygotowania kompozycji organożelu według wynalazku obejmuje dodanie krzemionki koloidalnej do 2-metyl-1,3-propanediolu (tj. rozpuszczalnika organicznego) oraz kwasu mlekowego (tj. regulatora pH) rozpuszczonego w wodzie. Całość jest mieszana aż do uzyskania jednorodnego, lepkiego i płynącego organozolu. Następnie dodawana jest trietyloamina (tj. zasada), która inicjuje proces żelowania i powstanie niepłynącego organożelu. W tym przykładzie wykonania żelowanie jest prowadzone w temperaturze pokojowej przy użyciu obrotowego mieszadła mechanicznego i mieszania ręcznego aż do uzyskania jednorodnego żelu. Przy czym, żadne dodatkowe czynniki fizyczne (np. podwyższona temperatura czy światło UV) nie są wymagane. W wyniku procesu otrzymano jednorodny żel, który następnie poddano analizie potencjometrycznej pH. Wartość pH wyniosła 8,34.

Dodatek krzemionki koloidalnej do ciekłej substancji lub mieszaniny substancji to powszechnie znany sposób podwyższania lepkości cieczy. W tej technice można odnaleźć fenomen sposobu transformacji reologicznej, gdzie płynący organozol złożony z rozpuszczalnika organicznego i krzemionki koloidalnej ulega transformacji reologicznej organozol-organożel przebiegającej wraz z istotną modyfikacją profilu reologicznego mieszaniny. Przy czym do transformacji niezbędny jest rozpuszczalnik polarny złożony z minimum 2 atomów węgla, który w strukturze chemicznej zawiera przynajmniej jeden atom węgla związany z atomem tlenu grupy hydroksylowej, karbonylowej, karboksylowej, alkoksylowej,

lowej lub estrowej oraz przynajmniej jeden nie podstawiony atom węgla grupy alifatycznej. W niniejszym przykładzie wykonania tym rozpuszczalnikiem był 2-metyl-1,3-propanediol. W ten sposób można otrzymać opalizujący żel o nie lejącej konsystencji. Transformację reologiczną inicjuje zasada w myśl teorii kwasów i zasad Lewisa oraz Brønsteda-Lowry'ego.

Następnie tak wytworzony organożel poddano analizie stabilności termicznej. W tym celu w zlewce 100 ml umieszczono około 30 g wytworzonego organożelu. Przygotowano łaźnię wodną z umieszczonym wewnątrz termometrem i nastawiono ogrzewanie do stałej temperatury 70°C. Następnie zlewkę z organożelem umieszczono w łaźni w taki sposób, aby poziom wody na zewnątrz zlewki był wyższy niż poziom organożelu wewnątrz zlewki. Ogrzewanie prowadzono przez 10 minut, po czym zlewkę usunięto z łaźni wodnej i osuszono jej ścianki zewnętrzne. Zlewkę niezwłocznie odwrócono do góry dnem i umieszczono w dobrze oświetlonym miejscu, na białym tle. Okiem nieuzbrojonym obserwowano, czy w próbce występują objawy płynięcia żelu lub rozdzielenia cieczy od żelu. W próbce nie zaobserwowano wyżej wymienionych zmian wizualnych. Należy zatem uznać, że kompozycja organożelu według wynalazku jest kompozycją makrostrukturalnie termostabilną.

Przykład 2

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- krzemionkę koloidalną hydrofitową (o powierzchni właściwej 200 m²/g) w ilości 9% wag.;
- propano-1,2-diol w ilości 80% wag.;
- wodę w ilości 10% wag.;
- wodorowęglan sodu w ilości 1% wag.;

a jej pH wynosi 8,74.

Przykład 3

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- krzemionkę koloidalną hydrofitową (o powierzchni właściwej 200 m²/g) w ilości 12% wag.;
- propano-1,3-diol w ilości 43% wag.;
- mleczan sodu w ilości 5% wag.;
- wodę w ilości 20% wag.;
- glikol polietylenowy (makrokol 400) w ilości 20% wag.;

a pH kompozycji wynosi 7,43.

Przy czym, w tym nieograniczającym przykładzie wykonania propano-1,3-diol stanowi rozpuszczalnik organiczny spełniający przesłankę polarnego rozpuszczalnika złożonego z minimum 2 atomów węgla, który w strukturze chemicznej zawiera przynajmniej jeden atom węgla związany z atomem tlenu grupy hydroksylowej, karbonylowej, karboksylowej, alkoksylowej lub estrowej oraz przynajmniej jeden nie podstawiony atom węgla grupy alifatycznej. Natomiast można stosować również inne rozpuszczalniki, w szczególności alkohole wielowodorotlenowe, nietoksyczne i nie żrące (w myśl rozumienia rozporządzenia CLP i REACH), o niskiej masie cząsteczkowej, zawierające 2–6 atomów węgla, np. propano-1,2-diol, 1,3-butanodiol, 1,2-pentanediol.

Ponadto w tym nieograniczającym przykładzie wykonania jako zasadę zastosowano mleczan sodu. Natomiast inne preferencyjne przykładowe zasady obejmują np. cytrynian sodu, amoniak, trietyloaminę, wodorowęglan sodu, fosforan (V) sodu. Szczególnie preferencyjnie mogą być stosowane zasady nieorganiczne, np. wodorotlenki, sole sodowe i potasowe słabych kwasów nieorganicznych (np. wodorowęglan sodu) lub zasady organiczne zawierające do 6 atomów węgla, np. aminy (np. trietyloamina) lub sole kwasów organicznych i metali I i II grupy układu okresowego (np. cytrynian sodu). Ponadto w rozumieniu wynalazku funkcję polarnego rozpuszczalnika oraz zasady może pełnić jeden związek, np. mleczan sodu.

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania w skład kompozycji wchodzi woda dodawana do kompozycji wraz z mleczanem sodu (tj. zasadą) w postaci roztworu.

Ponadto w tym nieograniczającym przykładzie wykonania zastosowano glikol polietylenowy (makrokol 400) jako regulator lepkości organożelu.

Przykład 4

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- 8% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej o powierzchni właściwej 200 m²/g;
- 62% wag. propano-1,2-diolu;
- 10% wag. glikolu polietylenowego (makrokol 400);
- 10% wag. alkoholu etylowego;
- 8,5% wag. wody;

0,5% wag. wodorotlenku potasu;
1% wag. kwasu mlekowego;
a pH tej kompozycji wynosiło 6,71.

Sposób przygotowania kompozycji według wynalazku:

W pierwszym etapie mieszano ze sobą propano-1,2-diol, glikol polietylenowy (makrogol 400) oraz alkohol etylowy. Następnie dodawana jest krzemionka koloidalna i całość jest ponownie mieszana aż do uzyskania jednolitego organozolu. Z wody oraz wodorotlenku potasu sporządza się roztwór wodny wodorotlenku potasu, który jest następnie dodawany do organozolu inicjując proces żelowania.

Po dodaniu zasady należy się upewnić, że pH organożelu mieści się w przedziale od 5 do 9. Zbyt niskie pH uniemożliwi transformację, z kolei zbyt wysokie pH uniemożliwia docelowe zastosowanie organożelu w postaci preparatu stosowanego na skórę i błony śluzowe. W tym przykładzie wykonania pomiar pH wykazał zbyt wysokie pH kompozycji, dlatego pH zostało obniżone do 6,71 przy pomocy wodnego roztworu kwasu mlekowego (80% wag./wag.), który stanowi regulator pH. Przy czym, do obniżenia pH można również stosować inne regulatory pH, np. kwas cytrynowy czy inne kwasy organiczne lub nieorganiczne np. kwas octowy, kwas borowy czy kwas fosforanowy.

Fig. 1 przedstawia wizualne zmiany właściwości kompozycji według wynalazku w wyniku transformacji reologicznej.

Tak przygotowaną kompozycję następnie poddano badaniom reologicznym jako kompozycję 1. Na potrzeby badań wytworzono porównawczą kompozycją organozolu (kompozycja 2) zawierającą:

8,9% wag. krzemionki koloidalnej;
68,9% wag. propano-1,2-diolu;
11,1% wag. alkoholu etylowego;
11,1% wag. glikolu polietylenowego (makrogol 400).

Przy czym, skład jakościowy i ilościowy kompozycji 2 został tak dostosowany, żeby po ewentualnym dodaniu wodnego roztworu wodorotlenku potasu i kwasu mlekowego być tożsamy z kompozycją 1.

W ramach przygotowania próbek do pomiaru właściwości reologicznych obie próbki pozostawiono na dobę do stabilizacji struktury.

Do pomiaru użyto wiskozymetru RM180 Mettler Toledo, komplet nr 3 wirnika i tubusa. Przed przystąpieniem do pomiaru wirnik i tubus oczyszczono alkoholem izopropylowym oraz skalibrowano urządzenie zgodnie z instrukcją producenta. Następnie wirnik zanurzono w badanej masie w taki sposób, aby masa organozolu lub organożelu pokrywała w całości główkę wirnika i sięgała wyznaczonej na tubusie wysokości. Pomiar przeprowadzano w stałej temperaturze $24,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Pomiaru dokonywano w programach krokowych przyspieszających w punktach prędkości ścinania od 50/s do 500/s oraz spowalniających od 500/s do 50/s. Wyniki sięgające poza zakres pomiarowy aparatury usunięto. Pomiar powtórzono 2-krotnie. Dane z pomiarów naniesiono na wykres wyznaczając w ten sposób profil reologiczny zależności siły ścinania od prędkości ścinania.

Wyniki przedstawiono na fig. 2, gdzie na fig. 2A przedstawiono charakterystykę organozolu stanowiącego kompozycję 2, natomiast na fig. 2B przedstawiono charakterystykę organożelu według wynalazku stanowiącego kompozycję 1. Przeprowadzona analiza wykazała, że przed transformacją reologiczną za pomocą zasady, organozol (kompozycja 2) wykazuje charakterystykę cieczy nienewtonowskiej o właściwościach tiksotropowych, natomiast po transformacji powstały organożel (kompozycja 1) wykazuje podwyższoną granicę płynięcia, wyższą lepkość oraz zmodyfikowany przebieg profilu reologicznego.

Przykład 5

Kompozycja organożelu według wynalazku stanowi bazę recepturową/technologię służącą do wprowadzania substancji aktywnych, szczególnie tych trudno rozpuszczalnych w wodzie.

Przy czym, w rozumieniu wynalazku substancję aktywną może stanowić substancja lub mieszanina substancji aktywnych farmakologicznie w myśl rozumienia każdej farmakopealnej substancji aktywnej, według aktualnej farmakopei europejskiej, bądź inna substancja lub mieszanina substancji nie odnotowana w monografiach szczegółowych farmakopei, ale posiadająca zastosowanie medyczne, kosmetyczne lub weterynaryjne w stosowanych na skórę grupach terapeutycznych, przykładowo, substancji przeciwwirusowych, np. propolis, przeciwbakteryjnych, np. kwas azelainowy, przeciwgrzybiczych, np. pirokton olaminy, przeciwświądowych, np. krotamiton, miejscowo znieczulających, np. benzokaina, przeciwzapalnych, np. sylimaryna, przeciwbólowych, np. mentol. Niezależnie od wybranej substancji, substancja czynna w kompozycji według wynalazku występuje w stężeniu wykazującym działanie terapeutyczne.

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja organożelu według wynalazku stanowi bazę recepturową/technologię służącą do wprowadzania wyekstrahowanego propolisu, do postaci kosmetyku do użytku zewnętrznego.

Fracja aktywna biologicznie propolisu, jako substancja żywiczna, nie rozpuszcza się w wodzie i olejach. Zastosowanie tradycyjnych technologii hydrożeli, czy organożeli nie pozwala na uzyskanie żelu o pożądanych aplikacyjnie właściwościach (przede wszystkim o pożądanej reologii i wysokim stopniu transparentności) przy jednoczesnym zachowaniu wysokiego stężenia ekstraktu z propolisu. W praktyce lekarskiej i naukowej wykorzystywany jest najczęściej etanolowy ekstrakt z propolisu 10% wag./wag. (1 porcja propolisu ekstrahowana 9 porcjami etanolu) zawarty zazwyczaj w ilościach 1–15% wag./wag. całej kompozycji.

Natomiast dzięki zastosowaniu organożelu według wynalazku możliwe jest przygotowanie preparatu o wyższej zawartości nasyconego ekstraktu propolisowego (wynoszącej nawet 50–90% wag./wag. całej kompozycji). W tym nieograniczającym przykładzie wykonania uzyskano organożel propolisowy, w którym substancja czynna (propolis) występuje w rozpuszczalniku organicznym (propano-1,2-diol) jako ekstrakt propolisowy. Zastosowano następujący skład kompozycji:

nasycony ekstrakt propolisowy, ekstrahowany propano-1,2-diolem (1 cz. propolis do 4 cz. propano-1,2-diolu ww.) w ilości 57,4% wag.;

krzemionka koloidalna o powierzchni właściwej 200 m²/g w ilości 8% wag.;

etanol w ilości 10% wag.;

wodorotlenek potasu w ilości 0,3% wag.;

woda w ilości 14,3% wag.;

glikol polietylenowy (makrogol 400) w ilości 10% wag.;

a pH kompozycji wynosi 6,30.

Dzięki kompozycji organożelu według wynalazku możliwe jest zachowanie cech klinicznych substancji aktywnych z jednoczesnym umożliwieniem utworzenia postaci opalizującego żelu. Przykładowo, próba preparatyki hydrożelu karbomerowego z nasyconym ekstraktem propolisowym spowodowałaby wytrącenie substancji aktywnej z roztworu rozpuszczalnika organicznego ze względu na niezbędny do hydratacji polimeru znaczący dodatek wody, co tym samym wpłynęłoby to na modyfikację właściwości aplikacyjnych i profilu uwalniania z postaci kosmetyku. Natomiast inne zaawansowane technologie, tj. np. mikroemulsje, czy liposomy potencjalnie dają możliwość wprowadzenia propolisu, ale w niższych (udokumentowanych literaturowo) stężeniach zawartości ekstraktu (etanolowego) w formulacji, niż w przypadku organożelu według wynalazku.

Sposób przygotowania kompozycji organożelu propolisowego według wynalazku:

Ekstrakt propolisowy został przygotowany poprzez ekstrakcję surowego propolisu propano-1,2-diolem znanymi metodami. Tak wytworzony nasycony ekstrakt propolisowy ekstrahowany propano-1,2-diolem zmieszano z etanolem oraz makroglem 400. Następnie dodana została krzemionka koloidalna i całość była ponownie mieszana aż do uzyskania jednolitego organożelu. Z wody oraz wodorotlenku potasu sporządzono roztwór wodny wodorotlenku potasu, który następnie dodano do organożelu inicjując proces żelowania.

Po dodaniu zasady należy się upewnić, że pH organożelu mieści się w przedziale od 5 do 9. Zbyt niskie pH uniemożliwi transformację, z kolei zbyt wysokie pH uniemożliwia docelowe zastosowanie organożelu w postaci preparatu stosowanego na skórę i błony śluzowe. Zbyt wysokie pH obniża się regulatorem, którym jest np. kwas cytrynowy, ale można stosować inne kwasy organiczne lub nieorganiczne np. kwas octowy, kwas mlekowy, kwas borowy, kwas fosforanowy. Natomiast w niniejszym przykładzie wykonania pH kompozycji organożelu propolisowego wynosiło 6,3 i nie wymagało dodatku regulatora pH.

Ponadto w tym przykładzie wykonania żelowanie przeprowadzono w temperaturze pokojowej na obrotowym mieszadle mechanicznym aż do uzyskania jednorodnego żelu. Przy czym, żadne dodatkowe czynniki fizyczne (np. podwyższona temperatura czy światło UV) nie są wymagane. W wyniku procesu otrzymano jednorodny żel.

Przy czym, organożel wykazuje charakterystykę cieczy nienewtonowskiej o właściwościach tiksotropowych, natomiast po transformacji powstały organożel wykazuje podwyższoną granicę płynięcia, wyższą lepkość oraz zmodyfikowany przebieg profilu reologicznego.

Następnie tak wytworzony organożel poddano analizie stabilności termicznej, badaniu stabilności w czasie, analizie stabilności w zmiennych warunkach przechowywania, analizie czystości mikrobiologicznej, analizie obciążenia mikrobiologicznego oraz analizie dermatologicznej.

Analiza stabilności termicznej:

W tym celu w zlewce 100 ml umieszczono około 30 g wytworzonego organożelu. Przygotowano łaźnię wodną z umieszczonym wewnątrz termometrem i nastawiono ogrzewanie do stałej temperatury 70°C. Następnie zlewkę z organożelem umieszczono w łaźni w taki sposób, aby poziom wody na zewnątrz zlewki był nieco wyższy niż poziom organożelu wewnątrz zlewki. Ogrzewanie prowadzono przez 10 minut, po czym zlewkę usunięto z łaźni wodnej i osuszono jej ścianki zewnętrzne. Zlewkę niezwłocznie odwrócono do góry dnem i umieszczono w dobrze oświetlonym miejscu, na białym tle. Obserwowano okiem nieuzbrojonym objawy płynięcia żelu lub rozdzielenia cieczy od żelu. W próbce nie zaobserwowano wyżej wymienionych zmian wizualnych. Należy zatem uznać, że kompozycja organożelu według wynalazku jest kompozycją termostabilną.

Badania starzeniowe – analiza stabilności w czasie:

Pierwszy etap badania stanowiło przygotowanie próbek. W tym celu do dziesięciu białych słoiczków wykonanych z polietylenu wprowadzono po 30 g organożelu według wynalazku. Następnie pięć słoiczków oznaczono jako próbki referencyjne, a pozostałe pięć słoiczków oznaczono jako próbki testowe.

Następnie próbki referencyjne pozostawiono w temperaturze pokojowej, w ciemnym miejscu o wilgotności względnej nie przekraczającej 60%. Próbki testowe poddawano badaniom stabilności w komorze klimatycznej Kenton WS-150 w zadanych stałych warunkach 30°C i wilgotności względnej 60%. Badanie prowadzono przez okres 6 miesięcy z uwzględnieniem pomiaru w odstępach cotygodniowych. Podczas pomiaru pobierano próbki testowe i porównywano z próbkami referencyjnymi dokonując oceny wizualnej i węchowej – koloru, zapachu, wizualnych objawów rozdziału faz, wytrącenia osadu, płynięcia organożelu lub innych objawów destabilizacji.

W wyniku przeprowadzonej analizy nie zaobserwowano różnic pomiędzy próbkami referencyjnymi i testowymi. W próbkach nie zaobserwowano objawów destabilizacji, co potwierdza stabilność kompozycji według wynalazku w czasie.

Analiza stabilności w zmiennych warunkach przechowywania:

Do analizy wykorzystano 6 g kompozycji organożelu w 12 tubkach wykonanych z polietylenu z aplikatorem typu kaniula. Próbki zostały poddane badaniom wahadłowym przeprowadzonym w 7 cyklach. Przy czym, jeden cykl obejmuje kolejno następujące po sobie etapy: temperatura pokojowa (minimum 1 doba), lodówka 2–8°C (1 doba), temperatura pokojowa (minimum 1 doba), cieplarka 38°C (1 doba).

Przeprowadzona analiza wykazała, że badana kompozycja nie wykazuje zmian wizualnych przy przechowywaniu w zakresie temperatur od 2 do 38°C. Ponadto przeprowadzone badania dodatkowo potwierdziły, że kompozycja według wynalazku nie powinna wykazywać zmian jakościowych podczas długoterminowego przechowywania.

Analiza czystości mikrobiologicznej:

Analiza czystości mikrobiologicznej została przeprowadzona zgodnie z metodyką według Rozporządzenia Ministra Zdrowia Dz. U. nr 9 z dnia 23.12.2002 Poz. 107, dla kategorii I. Do badań wykorzystano 10 g organożelu według wynalazku. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 1.

T a b e l a 1. Wyniki analizy czystości mikrobiologicznej kompozycji organożelu według wynalazku

Badany parametr	Wynik	Wymagania wg. Kategorii I
Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mezofilnych (jtk/g)	$<1,0 \times 10^1$ jtk/g	nie więcej niż 10^2 jtk/g
Obecność w 0,1 g preparatu:		
• <i>P. aeruginosa</i>	nieobecne	nieobecne
• <i>S. aureus</i>	nieobecne	nieobecne
• <i>C. albicans</i>	nieobecne	nieobecne

gdzie jtk oznacza jednostkę tworzącą kolonię.

Zgodnie z powyższym, kompozycja według wynalazku charakteryzuje się czystością mikrobiologiczną preparatu wymaganą dla Kategorii I.

Po tej wstępnej ocenie czystości mikrobiologicznej przeprowadzono mikrobiologiczny test obciążeniowy według metodyki wskazanej w PN-EN ISO 11930:2012 (A). Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Wyniki testu obciążenia mikrobiologicznego kompozycji według wynalazku zgodnie z normą PN-EN ISO 11930:2012 (A)

Badany szczep	Ilość drobnoustrojów w standaryzowanej zawiesinie (jtk/ml)	Poziom kontaminacji (jtk/g)	Uzyskane wyniki (jtk/g)		
			Po 7 dniach	Po 14 dniach	Po 28 dniach
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	N = 3,9 x10 ⁸	N0 = 3,9x10 ⁶	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =
			Log R= 5,6	Log R= 5,6	Log R= 5,6
Staphylococcus aureus ATCC 6538	N = 2,0x10 ⁸	N0 = 2,0x10 ⁶	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =
			Log R= 5,3	Log R= 5,3	Log R= 5,3
Escherichia coli ATCC 8739	N = 5,9x10 ⁸	N0 = 5,9 x10 ⁶	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =
			Log R= 5,8	Log R= 5,8	Log R= 5,8
Candida albicans ATCC 10231	N = 3,8x10 ⁷	N0 = 3,8x10 ⁵	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =	Nx <1,0x10 ¹ =
			Log R= 4,6	Log R= 4,6	Log R= 4,6
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	N = 2,3 x10 ⁷	N0 = 2,3x10 ⁵	x	Nx = < 1,0x10 ¹ jtk/g	Nx = < 1,0x10 ¹ jtk/g
				Log R= 4,4	Log R= 4,4
Wymagania ^a	Log redukcji (Kryterium A)	Bakterie	≥3	≥3 i NI	≥3 i NI
		Candida albicans	≥1	≥1 i NI	≥1 i NI
		Aspergillus brasiliensis	x	≥0 ^b	≥1

a – dopuszczalne odchylenie od wartości akceptowalnej stopnia redukcji liczby drobnoustrojów wynosi 0,5 log, (A)- metodyka akredytowana nb- nieobecne jtk- jednostki tworzące kolonie, b- liczba drobnoustrojów nie zwiększa się w stosunku do początkowego poziomu kontaminacji próbki, N0=liczba jtk w 1 g próbki po kontaminacji, N- ilość drobnoustrojów w standaryzowanej zawiesinie, Nx= liczba jtk w 1 g próbki po określonym czasie, Log R= stopień redukcji liczby drobnoustrojów w Log gdzie R= N0-Nx; x- badania nie wykonuje się, NI- liczba drobnoustrojów nie zwiększa się

Walidacja Neutralizacji				
Szczep	Wyniki			
	Nvf/ Nvn	Nvn	Nv	Wymagania
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	1,02	125	130	Nvf/ Nvn ≥0,5 Nvn≈ Nv
Staphylococcus aureus ATCC 6538	0,95	198	199	
Escherichia coli ATCC 8739	0,96	153	149	
Candida albicans ATCC 10231	0,83	24	26	
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	1,10	21	25	
Nvf – liczba jtk w 1 ml próbki testowej (neutralizator+ badany produkt); Nvn- liczba jtk w 1 ml próbki kontrolnej (neutralizator + rozcieńczalnik); Nv- liczba jtk w 1 ml kontroli inokulum				

Z powyższej analizy jednoznacznie wynika, że kompozycja według wynalazku spełnia kryteria wyrażone w normie PN-EN ISO 11930:2012 (A).

Analiza dermatologiczna:

Kompozycję według wynalazku przebadano również pod kątem właściwości drażniących i uczulających.

Do badań dermatologicznych wytypowano 15 kobiet w wieku 18–57 lat. Wszyscy wytypowani do badań probanci spełniali wymagania dotyczące włączenia do badań oraz podpisali zgodę na świadome uczestniczenie w badaniu, a także zostali poinformowani o celu badania, sposobie jego prowadzenia oraz o możliwych działaniach niepożądanych. Probanci podczas całego badania byli pod stałą opieką lekarza dermatologa.

Zastosowanym modelem badawczym był test skórny (płatkowy, patch test) wg Jadassohna-Blocha (w modyfikacji Rudzkiego), polegający na jednokrotnej aplikacji produktu na wybrany obszar skóry z uwzględnieniem rodzaju aplikacji. Zapis wyników został wykonany zgodnie z zaleceniami Międzynarodowej Grupy Badającej Wyprysk Kontaktowy (ICDRG).

Badania wykonano przy pomocy plastrów hipoalergicznym z komorą (tzw. testów płatkowych). Plaster ten przykleja się na skórę pleców lub ramion. Pod plastrem w specjalnej komorze umieszczona została niewielka ilość badanego produktu w stężeniu handlowym. Próby zdejmowano po 48 godzinach. Pierwszy odczyt testu miał miejsce pół godziny po zdjęciu próby, a następne po 72 godz., 96 godz. oraz po tygodniu od założenia testu. Ocena odczynów została wykonana przez lekarza dermatologa nadzorującego badanie, według ogólnie przyjętej w badaniach dermatologicznych skali.

U żadnej z 15 osób poddanych badaniom dermatologicznym, nie stwierdzono dodatnich odczynów, ani reakcji podrażnieniowej. Należy zatem uznać, że kompozycja według wynalazku nie wykazuje własności drażniących ani uczulających.

Przykład 6

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- 65% wag. nasyconego ekstraktu propolisowego ekstrahowanego propano-1,2-diolem (stosując 1 cz. propolisu do 4 cz. propano-1,2-diolu ww.);
- 20% wag. glikolu polietylenowego (makrogolu 400);
- 4,75% wag. wody;
- 0,25% wag. wodorotlenku potasu;

10% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej (o powierzchni właściwej 200 m²/g);
a pH kompozycji wynosiło 6,65.

Wygląd otrzymanej kompozycji przedstawiono na fig. 3.

Przykład 7

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

6,1% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej (o powierzchni właściwej 200 m²/g);
69,4% wag. 1,5-pentanodiolu;
20% wag. glikolu polietylenowego (makroglu 400);
2% wag. trietyloaminy;
2% wag. wody;
0,5% wag. kwasu cytrynowego;

a pH wytworzonej kompozycji wynosiło 8,26.

Przykład 8

Kompozycja organożelu według wynalazku stanowi bazę recepturową/technologię służącą do wprowadzania substancji aktywnych, szczególnie tych trudno rozpuszczalnych. Potencjalnie żel można zastosować jako postać transdermalną substancji aktywnych o działaniu miejscowym głębokim i ogólnoustrojowym.

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

10% wag. benzokainy;
9% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej (o powierzchni właściwej 200 m²/g);
64,49% wag. propano-1,2-diolu;
10% wag. etanolu;
5% wag. wody;
1% wag. mleczanu sodu;
0,5% wag. kwasu octowego;
0,01% wag. glikolu polietylenowego (makroglu 400);

a pH tej kompozycji wynosi 5,81.

Choć w tym nieograniczającym przykładzie wykonania substancję aktywną stanowiła benzokaina to w kompozycji według wynalazku można stosować również inne substancje aktywne stosowane w systemach transdermalnych np. trudno rozpuszczalne substancje aktywne z grupy NLPZ, chemioterapeutyki przeciwnowotworowe, substancje przeciwhistaminowe, sterydy lub substancje czynne innych grup terapeutycznych.

Przykład 9

W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

2% wag. benzokainy;
8% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej (o powierzchni właściwej 200 m²/g);
73,7% wag. propano-1,2-diolu;
10% wag. etanolu;
5% wag. wody;
0,8% wag. mleczanu sodu;
0,5% wag. kwasu mlekowego;

a pH wynosi 5,06.

Przykład 10

Kompozycja organożelu według wynalazku stanowi bazę recepturową/technologię służącą do wprowadzania substancji aktywnych, szczególnie tych trudno rozpuszczalnych. Potencjalnie żel można zastosować jako postać transdermalną substancji aktywnych o działaniu miejscowym głębokim np. przeciwzapalnym. W tym nieograniczonym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

0,5% wag. sylimaryny;
77,7% wag. propano-1,3-diolu;
6% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej (o powierzchni właściwej 200 m²/g);
0,5% wag. wodorofosforanu disodu;
0,3% wag. kwasu mlekowego;
10% wag. wody;
5% wag. glikolu polietylenowego (makroglu 400);

a jej pH wynosi 8,06.

Przykład 11

Kompozycja organożelu według wynalazku stanowi bazę recepturową/technologię służącą do wprowadzania substancji aktywnych, szczególnie tych trudno rozpuszczalnych. W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- 15% wag. kwasu azelainowego;
- 8% wag. krzemionki koloidalnej;
- 51% wag. propano-1,2-diolu;
- 10% wag. alkoholu etylowego;
- 1% wag. wodorotlenku potasu;
- 5% wag. wody;
- 10% wag. glikolu polietylenowego (makroglu 400);

a pH kompozycji organożelu wynosi 5,29.

Sposób przygotowania kompozycji według wynalazku:

W pierwszym etapie mieszano ze sobą propano-1,2-diol, makrogol 400, alkohol etylowy oraz wodorotlenek potasu uprzednio rozpuszczony w wodzie. Następnie dodano kwasu azelainowego i mieszano w łaźni wodnej o temperaturze 70°C do całkowitego rozpuszczenia substancji aktywnej. Kolejno dodano krzemionkę koloidalną i całość ponownie mieszano aż do uzyskania jednolitego organożelu. Wytworzony został opalizujący organożel.

Po dodaniu zasady należy się upewnić, że pH organożelu mieści się w przedziale od 5 do 9. Zbyt niskie pH uniemożliwi transformację, z kolei zbyt wysokie pH uniemożliwia docelowe zastosowanie organożelu w postaci preparatu stosowanego na skórę i błony śluzowe. W tym przykładzie wykonania pomiar pH wykazał wartość na poziomie 5,29.

W tym nieograniczającym przykładzie żelowanie nastąpiło zaraz po dodaniu krzemionki koloidalnej, z uwagi na obecność zasady wewnątrz mieszaniny. Natomiast kolejność dodawania każdej substancji do mieszaniny według wynalazku jest dowolna.

Przykład 12

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- 10% wag. krotamitonu;
- 12% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej o powierzchni właściwej 300 m²/g;
- 29,99% wag. propano-1,2-diolu;
- 0,01% wag. wodorotlenku potasu;
- 20% wag. wody;
- 18% wag. glikolu polietylenowego (makrogol 400);
- 10% wag. etanolu;

a pH kompozycji wynosi 7,64.

Przykład 13

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- 10% wag. mentolu;
- 10% wag. krzemionki koloidalnej;
- 36,5% wag. propano-1,2-diolu;
- 20% wag. etanolu;
- 20% wag. wody;
- 0,5% wodorotlenku sodu;
- 3% kwasu borowego;

a pH kompozycji wynosi 6,36.

Przykład 14

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

- 1% wag. piroktonu olaminy;
- 6% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej o powierzchni właściwej 380 m²/g;
- 84,08% wag. propano-1,2-diolu;
- 0,9% wag. wodorowęglanu sodu;
- 8% wag. wody;
- 0,01% wag. glikolu polietylenowego (makrogol 400);
- 0,01% wag. etanolu;

a pH kompozycji wynosi 8,42.

Przykład 15

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

6% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej o powierzchni właściwej 200 m²/g;

91,94% wag. propano-1,2-diolu;

2% wag. wody;

0,02% wag. wodorotlenku sodu;

0,04% wag. kwasu mlekowego;

a pH kompozycji wynosi 8,58.

Przykład 16

W tym nieograniczającym przykładzie wykonania kompozycja według wynalazku zawiera:

9% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej o powierzchni właściwej 200 m²/g;

49,5% wag. propano-1,2-diolu;

10% wag. gliceryny;

10% wag. benzokainy;

9% wag. wody;

10% wag. etanolu;

1,5% wag. wodorotlenku sodu;

1% wag. kwasu octowego;

a pH kompozycji wynosi 6,68.

Sposób przygotowania kompozycji według wynalazku:

W pierwszym etapie zmieszano ze sobą propano-1,2-diol, glicerynę, alkohol etylowy oraz uprzednio przygotowany wodny roztwór kwasu octowego i wodorotlenku sodu. W drugim etapie, do tak przygotowanej mieszaniny dodano krzemionkę koloidalną i wymieszano ręcznie i za pomocą mieszadła mechanicznego do uzyskania jednolitego żelu. W trzecim etapie do tak przygotowanego organożelu dodano roztartą uprzednio w moździerzu benzokainę i dokładnie wymieszano ręcznie podczas ogrzewania w łaźni wodnej o temperaturze 50°C. Wytworzony został opalizujący organożel. Przy czym, baza formulacyjna organożelu (tj. etapy 1–2) może być uprzednio przygotowana. Natomiast etap 3 (tj. dodanie substancji czynnej) może zostać wykonany w późniejszym terminie. A zatem niniejszy przykład wykonania ukazuje możliwość wykorzystania uprzednio przygotowanej bazy formulacyjnej organożelu do rozpuszczania lub zawieszenia substancji aktywnej, na przykład w warunkach receptury aptecznej.

Zastrzeżenia patentowe

1. Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny, **znamienna tym**, że zawiera co najmniej jedną substancję aktywną, wodę, organiczną albo nieorganiczną substancję stanowiącą zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego, natomiast krzemionkę koloidalną stanowi krzemionka koloidalna hydrofilowa, a co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny stanowi ciekły, polarny rozpuszczalnik organiczny wybrany z grupy obejmującej glikole, propano-1,2-diol, propano-1,3-diol, 2-metyl-1,3-propanodiol, 1,3-butanodiol, 1,4-butanodiol, 1,2-pentanodiol, 1,5-pentanodiol, 1,2-heksanodiol, przy czym pH kompozycji wynosi od 5 do 9.
2. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że powierzchnia właściwa krzemionki koloidalnej wynosi od 200 do 380 m²/g.
3. Kompozycja według zastrz. 1 albo 2, **znamienna tym**, że rozpuszczalnik organiczny jest rozpuszczalnikiem o niskiej masie cząsteczkowej, zawierającym 2–6 atomów węgla.
4. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 3, **znamienna tym**, że substancja aktywna wybrana jest z grupy obejmującej substancje przeciwwirusowe, substancje przeciwbakteryjne, substancje przeciwgrzybicze, substancje przeciwsładowe, substancje miejscowo znieczulające, substancje przeciwzapalne, substancje przeciwbólowe.
5. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 4, **znamienna tym**, że zawiera 0,01–5% wag. organicznej albo nieorganicznej substancji stanowiącej zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego; 2–20% wag. wody; 6–12% wag. krzemionki koloidalnej hydrofilowej; 29,99–91,98% wag. co najmniej jednego rozpuszczalnika organicznego oraz 0,01–50% jednej lub więcej substancji dodatkowych wy-

branych z grupy obejmującej stabilizatory synerezy, regulatory lepkości, substancje aktywne, regulatory pH lub ich kombinacje.

6. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 5, **znamienna tym**, że zawiera 8–10% wag. krzemionki koloidalnej.
7. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 6, **znamienna tym**, że zawiera 80–92% wag. rozpuszczalnika organicznego.
8. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 7, **znamienna tym**, że zawiera 0,1 do 2% wag. organicznej lub nieorganicznej substancji stanowiącej zasadę według teorii kwasów i zasad Lewisa oraz według teorii Brønsteda-Lowry'ego.
9. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 5, **znamienna tym**, że zawiera 0,01–20% wag. co najmniej jednego regulatora lepkości.
10. Kompozycja według zastrz. 9, **znamienna tym**, że regulator lepkości jest wybrany z grupy obejmującej glicerynę lub ciekłe glikole polietylenowe wykazuje lepkość kinematyczną powyżej 105 mm²/s przy 20°C.
11. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 5, **znamienna tym**, że zawiera 0,01–20% stabilizatora synerezy.
12. Kompozycja według zastrz. 11, **znamienna tym**, że stabilizator synerezy stanowi etanol.
13. Kompozycja według dowolnego z poprzednich zastrz. od 1 do 12, **znamienna tym**, że zawiera regulator kwasowości.

Rysunki

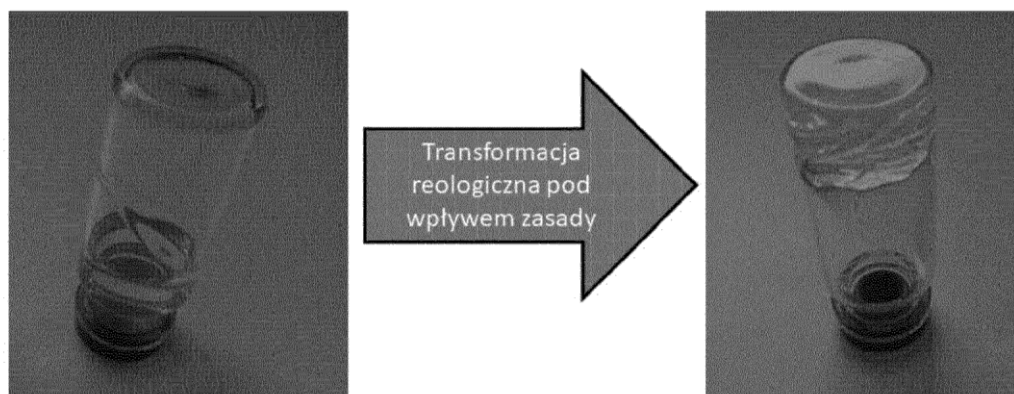


Fig. 1

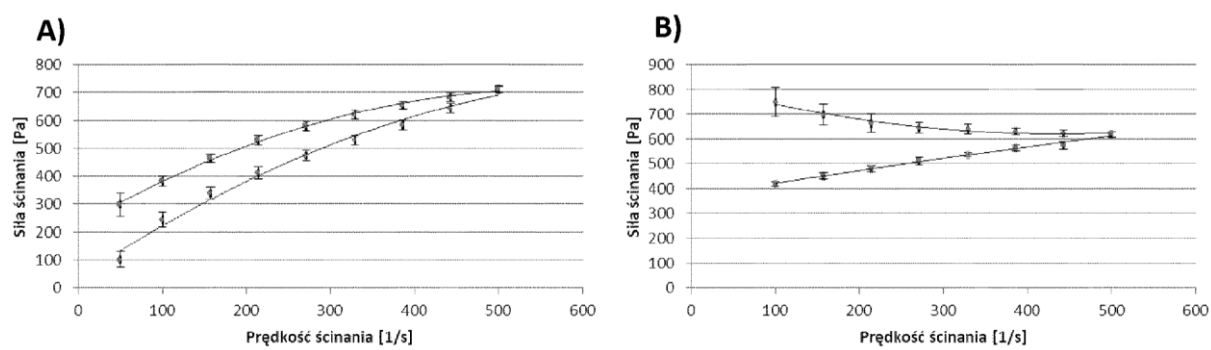


Fig. 2



Fig. 3

Article

Stability and Rheological Properties of the Novel Silica-Based Organogel—A Drug Carrier with High Solubilization Potential

Grzegorz Suwiński ^{1,2,*}  and Izabela Nowak ^{1,*} ¹ Department of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań, Poland² Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol Sp. z o. o., Święty Wojciech 29, 61-749 Poznań, Poland

* Correspondence: grzegorz.suwinski@amu.edu.pl (G.S.); nowakiza@amu.edu.pl (I.N.)

Abstract: Dissolution of a poorly soluble active pharmacological substance in a drug carrier usually requires advanced techniques and production equipment. The use of novel carriers such as microemulsions, vesicles, or nanocarriers might entail various limitations concerning production cost, formulation stability, or active substance capacity. In this paper, we present a novel fumed silica-based organogel as a low-cost, simple preparation drug or cosmetic carrier with interesting rheological properties and high solubilization capacity. The objective of the study was to characterize the utility aspects of the new dermatological base with special emphasis on stability, rheology, and release studies. Various formulations of a silica organogel base with poorly soluble active pharmacological substances such as propolis or ibuprofen were prepared and tested. The studies of thermal stress, enforced syneresis, and long-term stability were performed along with analyses of rheological profiles of alkali-dependent sol–gel transformation and organogel release. The new drug vehicle shows high thermodynamic stability, thixotropic rheology and first-order release profile. Such properties are promising for commercial utility as a dermatologically applied base for poorly soluble substances.

Keywords: silica; organogel; drug delivery carrier; solubilization; cosmetic



Academic Editor: Daniela Iannazzo

Received: 11 April 2024

Revised: 18 November 2024

Accepted: 30 December 2024

Published: 9 January 2025

Citation: Suwiński, G.; Nowak, I. Stability and Rheological Properties of the Novel Silica-Based Organogel—A Drug Carrier with High Solubilization Potential. *Materials* **2025**, *18*, 266. <https://doi.org/10.3390/ma18020266>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Pharmaceutical industry generates growing demand for original and generic active pharmaceutical ingredients (APIs) designed for useful and competitive drugs to be launched on the market. According to the literature, 40% of currently marketed and 90% of developed APIs are considered poorly soluble [1]. This attribute of substance may affect permeability, bioavailability, and even production method issues of potential drugs. The problem, however, is reduced by a growing number of drug carrier technologies invented particularly for poorly soluble substances. The use of these new technologies is aimed at reaching increased bioavailability, biocompatibility, stability, and release control of a drug with a poorly soluble API. The new technologies based on micronization and precipitation (e.g., lipid nanoparticles, nanocrystals), solubilization (e.g., organogels, microemulsions, self-microemulsifying systems), or encapsulation (e.g., vesicles, microcapsules) have been reported in numerous papers [2–4]. All these techniques are based on a homogenous distribution of APIs and their introduction in the smallest possible particle size or in solubilized form. Each of the proposed technologies was characterized by its specific production method, selection of drug excipients for choosing the proper one, API characterization, route of administration, production cost, materials, and needed specific instrumentation [5].

Among all the technological solutions proposed for poorly soluble APIs, the preparation of organogel is considered one of the simplest, usually not requiring advanced equipment to produce. Pluronic Lecithin Organogels (PLOs) and Lecithin Organogels (LOs) with various APIs like polyphenols can be used for drug production industrially or manually by pharmacists [6,7]. The biocompatible PLO and LO bases are also utilized as transdermal systems because of their high drug capacity and stable *in vitro* release profile [8]. Organogels are semi-solid structures in which organogelator immobilizes organic solvents by creating a crosslinked network. There are several classifications of organogels, based on the types of organogelator and the method of binding. For instance, low molecular-weight organogelators (LMOGs, <1 kDa) and polymeric organogelators (POGs, >2 kDa) can be distinguished. These particles are bound through various interactions: physical, including hydrogen bonding, π - π stacking, Van der Waals forces, and chemical, covalent bonds [9]. This non-complex structure is similar in fluid phase immobilization, transparency, and elastic or viscoelastic properties to hydrogels, such as the popular in pharmacy carbomer gels [10,11]. In contrast to hydrogels, in organogels, the interactions between the crosslinked network and the fluid phase are based on weaker bondings. The phenomenon raises the stability issues resulting from the contraction of the network, observed as a leakage of the fluid phase out of the organogel structure [12]. The process, called syneresis, is a characteristic property of organogels and thus is a main issue in the use of an organogel as a long-term stable drug. Another characteristic property of most organogels is thermal transition of the sol–gel state. The drug stability and favorable method of its production can be assessed based on the transition parameters: T_{melt} (organogel melting temperature), T_{gel} (gelation transition temperature), T_{sol} (organogel liquefaction temperature), and T_{form} (organogel formation temperature) [13].

The advanced organogel technologies are expanding rapidly in various applications. However, medicinal use is limited to safe and biocompatible organogelators and solvents. A new interesting way of organogelation was proposed with the use of fumed silica-based organogels. In such organogels, the organogelator forms a network of agglomerated primary silica particles, stabilizing the gel structure. Fumed silica is widely used in oral and dermal drugs. It can create transparent gel with nonpolar solvents such as liquid paraffin as well as with polar organic solvents, like glycols. Thanks to these properties, fumed silica is a potent, biocompatible organogelator [14]. A. Patel with co-workers have proposed an interesting technology for such an organogel by building it up with fumed silica and vegetable oil [15]. They explained the agglomerate-based structure of silica and dependence of organogel properties on the content of fumed silica (2.5–15% *w/w*). A more complex formulation with Meloxicam as an API was introduced by T. Osmalek in 2018 [16], who revealed promising rheological properties of a non-Newtonian, pseudoplastic organogel formulated with fumed silica and polar organic solvents.

In this paper, we present for the first time the characterization of novel fumed silica-based organogel formed with a water solution of a base and a weak acid. Recipe foundations for experimental study are described in patent PL 241552 [17]. Experimental methods used in the study were selected for the characterization of utility traits as a drug or a cosmetic with special emphasis on the stability of a silica-based organogel. The vehicle described in this article offers promising advantages over established organogel technologies such as PLO and LO. Similarly, the vehicle can solubilize high contents of APIs (e.g., propolis) and can be produced using non-complex production equipment and non-toxic substances. However, the advantages over PLO and LO may be demonstrated by preferable sensory characteristics (e.g., transparency, Figure 1), similar to those known from popular hydrogels. It also demonstrates a promising prolonged release profile, as evidenced by an example of an ibuprofen-infused organogel.



Figure 1. Appearance of propolis organogel.

2. Materials and Methods

Materials. Fumed silica (Cab-O-sil M5, 200 m²/g surface area, Cabot corp., Boston, MA, USA) and propylene glycol were purchased from Brenntag (Essen, Germany). Purified water was acquired from Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol (Poznań, Poland). Macrogol 400 was purchased from Mosselman (Mons, Belgium). Ethanol 96% (*v/v*) was purchased from HGBS (Wrocław, Poland). Glycerin 99.7% (*w/w*) was purchased in Oquema (Korschenbroich, Germany). Ibuprofen was kindly donated by Merck (Corsier-sur-Vevey, Switzerland). Propolis was purchased from Standard (Lublin, Poland). All substances used were of cosmetic or pharmaceutical quality. Acids and bases used in the experiment were of analytical quality. Propolis was extracted to liquid propolis extract form by a 2-week extraction of crude propolis closed in cotton filter bags and immersed in a mixture of solvents. The mixture depended on the final formulation described for formulas P2, P6–P8 in Table 1. Propolis extracts were clear liquids with characteristic color and odor.

Table 1. Formulations prepared in the study.

	Glycerin	Ethanol	Propylene Glycol	Macrogol 400	Water	Fumed Silica	KOH	NaHCO ₃	Sodium Lactate	Propolis	Ibuprofen
1A	83.5	0	0	0	10	6	0	0.5	0	0	0
1B	0	83.5	0	0	10	6	0	0.5	0	0	0
1C	0	0	93.5	0	0	6	0	0.5	0	0	0
1D	0	0	83.5	0	10	6	0	0.5	0	0	0
1E	0	0	83.8	0	10	6	0.2	0	0	0	0
1F	0	0	84	0	10	6	0	0	0	0	0
P1	0	81	0	0	10	8	0	0	1	0	0
P2	0	10	38.3	10	15	8	0.3	0	0	18.4	0
P3	0	0	92	0	0	8	0	0	0	0	0
P4	0	0	87	0	4	8	0	0.4	0	0	0
P5	0	10	61.6	10	10	8	0	0.4	0	0	0
P6	0	0	54.4	20	5.7	10	0.3	0	0	18.4	0
P7	0	12	55.6	0	5.7	8	0.3	0	0	18.4	0
P8	0	0	53.3	10	10	8	0.3	0	0	18.4	0
P9	0	11.1	68.9	11.1	0	8.9	0	0	0	0	0
P10	0	10	62	10	8.5	8	0	0	1.5	0	0
P11	0	10	49	10	10.1	10	0	0.9	0	0	10

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 were obtained from commercial sources (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) and stored in Microbank system (Pro-Lab Diagnostics, Round Rock, TX, USA) and inoculated on tryptone soya agar medium. Inoculation was incubated for 24 h at 34.0 ± 1.0 °C. Afterward, one colony was incubated for 16–18 h at 34.0 ± 1.0 °C with liquid tryptone soya medium to obtain a 10^8 CFU/mL suspension. *Candida albicans* ATCC 10231 was obtained from the Microbank system and inoculated on Sabouraud agar medium. The inoculation was incubated for 48 h at 22.0 ± 1.0 °C. Afterward, one colony was incubated for 48 h at 22.0 ± 1.0 °C in Sabouraud broth medium to obtain a 10^8 CFU/mL suspension.

Organogel preparation. Organogels were prepared according to the patent methodology [17]. Fumed silica was added in portions to organic solvents with solubilized APIs and mixed with a propeller stirrer until a homogenous, viscous liquid was obtained. To initiate sol–gel transformation, a water solution of both basic and acidic substances was added and the contents were stirred until a viscous, semi-solid gel was formed. Propolis organogel was prepared by a different method because propolis extract already contained all the solvents and the water base solution. Propolis extract was placed under a stirrer and silica was added partially until a homogenous, semi-solid organogel was obtained. Xerogel was prepared in the same way as organogels but with slow evaporation of a solvent until dry light mass was obtained. The formulations prepared are listed in Table 1. Formulations 1A–1F were prepared to provide preliminary information on appearance and flow occurrence. Formulations P1–P11 were used for further studies, as described below.

Methods used for characterization. Observations were obtained at least in triplicate and their average was taken as the response variable.

Scanning Electron Microscopy. The microstructure and morphology of xerogel (P1) were determined by scanning electron microscopy (SEM, Quanta FEG 250 (FEI), Hillsboro, OR, USA) under a low-pressure vacuum (70 Pa) and 10 kV beam acceleration voltage. Samples were analyzed on a 400 mesh carbon-coated copper grid.

Polarized light microscopy. An even thin layer of propolis organogel (P2) was placed on the microscope glass and studied with a polarizing microscope Olympus BX-52 (Tokyo, Japan) with lenses of $10\times$, $20\times$, and $50\times$ magnification. Visualization of the sample was performed with signals of height and laser light intensity.

Particle size distribution. Volume-weighted particle size distribution was measured on LUMiSizer® 651 (LUM GmbH, Berlin, Germany) according to ISO 13318. Samples (P3–P5) were homogenized with a spatula and transferred into 10 mm polycarbonate cells. The measurement was performed using 410 nm light, 2300 relative centrifugal acceleration, at 25 °C. The volume-weighted particle size distributions were derived by analyzing the time course of transmission at fixed positions. The particle size was obtained as an equivalent diameter, based on the hydrodynamic diameter of rigid spherical particles.

Thermal stability of organogel structure. A sample of 30 g of propolis organogel (P2) was placed in a beaker in a water bath set to 70 °C temperature. The sample was submerged in the water bath. After 10 min of heating, the beaker was taken out, wiped off the water outside, and put upside down on a well-lit white background. Any signs of destabilization, liquid separation, or any other visual changes were checked.

Long term stability. Propolis organogels (P2, P6–P8), 30 g in polyethylene jars, were divided into groups of test and reference samples. Reference samples were placed in the dark in room conditions at 20–23 °C. The tested samples were placed in a climatic chamber at 30 °C and 60% relative humidity. The tested and reference samples were checked in intervals of 1, 7, 14, 28, 56, 84, 168, and 365 days. Sample inspection concerns changes in the visual appearance of the sample and the container, smell detection, and mass homogeneity evaluation.

Cooling-heating stability. Portions of 6 g of propolis organogels (**P2**) in polyethylene small tubes, were divided into groups of test and reference samples. Reference samples were placed in the dark at 20–23 °C. Tested samples were kept in changing conditions: fridge (2–8 °C, 1 day), room temperature (1–3 days), incubator (38–40 °C, 1 day), and room temperature (1–3 days), in a total of 6 cycles. Sample inspection after each cycle concerned changes in the visual appearance of the sample and the container, smell, and mass homogeneity.

Enforced syneresis. Enforced syneresis was measured according to the method proposed by Wilhelm and Kind (2014) with modifications [18]. Briefly, a system composed of a sinker (weight), syringe, semi-permeable barrier, and measure cylinder was built (Figure 2). A sample of around 40 mL (V_0) of the organogel was inserted into a syringe ($\varnothing = 27.78 \pm 0.1$ mm) and left for around an hour to stabilize. Then, a syringe piston was inserted and pressed down to full contact with the sample. A constant weight of 1500 g was put vertically on the piston. The volume of the liquid collected (ΔV) in the measuring cylinder was checked at time intervals of 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 24 h. The degree of enforced syneresis [%] was measured as equation $\Delta V/V_0$. Measurements were performed at 22–25 °C. The samples were prepared using base formulation (**P2**) and different excipients were incorporated into it.



Figure 2. The enforced syneresis measurement system.

Rheology profile. The prepared samples were left for 1 day for structure stabilization. The measurements were performed on an RM180 Mettler Toledo Viscosimeter (Leicester, UK) at 24 ± 1 °C. A concentric cylinder (spindle no. 3) and a 15-step program was used to measure the rheological profile. Shear stress and viscosity were measured after 20 s of each interval from 100 to 500 1/s shear rate. Measurements were made for sol–gel pairs (**P9–P10**) to verify the change in the rheological profile before and after the transition.

Release profile. The diffusion apparatus 708-DS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), equipped with a UV-Vis Cary 50 Bio spectrophotometer (Varian, Palo Alto, CA, USA, $\lambda = 221$ nm) was used for the studies performed under SUPAC-Semisolid Guidance. An Enhancer Cell (VanKeln, Varian, Palo Alto, CA, USA) with a 2 cm² surface area membrane and 200 mL flat bottom vessel was used. A membrane made of a natural polymer that

is a special type of cellulose called Cuprophan was used in this study. It is an ultra-thin membrane with a thickness of 7–17 μm and a cutoff value of 7–17 kDa. A major advantage of the Cuprophan membrane is its low risk of perforation due to the high elasticity of the membrane material. The membrane was conditioned in the acceptor solution for several hours before each analysis. The release of ibuprofen from the prepared formulation (**P11**) was studied at 32 ± 0.1 °C using the acceptor solution which was a phosphate buffer of pH 5.8.

Dermatological study. The tests were conducted under the supervision of a dermatologist at Specjalistyczne Laboratorium Badawcze Skin Lab INTERNATIONAL Sp. z o.o. with the number of approval of 04/11/19/D/10. Informed and written patient consent prior beginning of tests was collected by the company in accordance with the WMA Declaration of Helsinki and the Product Test Guidelines for the Assessment of Human Skin Compatibility 1997 (Cosmetics Europe) on 15 participants, women aged 18–57. The patch test was performed according to the Jadassohna–Bloch methodology and SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation—12th revision. Briefly, a 0.2 g sample of propolis organogel (**P2**) was placed inside a hypoallergic patch and then onto the participants' skin on an arm or a back. After 48 h the patch was removed. Verifications of any irritation signs were performed in intervals, 48, 72, 96 h, and a week after the patch application. The visual evaluation was based on the redness level of the skin tone at the site of the patch application.

Antimicrobial activity. In tests (compliant with the European Pharmacopeia, briefly in aseptic conditions), 10 g of propolis organogel (**P2**) and reference strains were placed in a flask to obtain a concentration of 10^5 – 10^6 CFU/g of the product, and mixed until homogenous. Portions of 1 mL of the samples were collected after 0 (reference), 0.25, 1, 6, and 24 h. Samples were added directly to broths using a tenfold dilution method with sodium chloride solution and incubated for 24 h at 34.0 ± 1.0 °C for bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, and for 48 h at 22.0 ± 1.0 °C for *Candida albicans* strain. Afterwards, the colonies were counted and a weighted average was calculated.

3. Results

3.1. Observational Study of Organogel Formation

The utility of a given formulation as a carrier for an active substance imposes certain preferred assets, characteristic of hydrogels, e.g., high transparency, not flowing under gravity force, high viscosity, and stability. In this study, various components of the silica organogel were used to distinguish the one showing characteristics closest to commercially popular carbomer hydrogels. The organosol–organogel transition was observed visually by adding an alkaline substance to the solvent with silica and mixing the sample thoroughly with a spatula until gel formation. As observed, alkalis alone induced only labile transition. To ensure permanent gelation, the presence of a small amount of water (2–20% *w/w*) and acidic counterions were needed. Formulations **1A–1F** are characterized in Table 2. The use of ethanol as a solvent led to the formation of a non-transparent firm gel. The use of glycerin hardly affected the transition but ensured higher viscosity and transparency of the product. The most desirable gelation effect was obtained when using propylene glycol in whose presence a translucent, stable gel was formed.

Table 2. Characteristics of 1A–1F samples. N/A—not applicable.

						
Sample	1A	1B	1C	1D	1E	1F
Flow	YES	NO	YES	NO	YES	YES
Appearance	Transparent	Turbid	Translucent	Translucent	Translucent	Translucent
Syneresis	N/A	YES	YES	NO	YES	N/A

3.2. Microscopy and Structure Confirmation

In macroscale, silica-based organogel appears as a transparent or translucent, homogeneous gel. Different microscopic observations were made to check the formation of silica agglomerates (Figure 3). Confocal microscopy with light polarization permitted observations of the irregular surface of the organogel. To obtain SEM images, the organogel was formed and dried into a solid form of xerogel. In high magnitude visualized by SEM, we can distinguish a sponge-like network structure composed of silica aggregates.

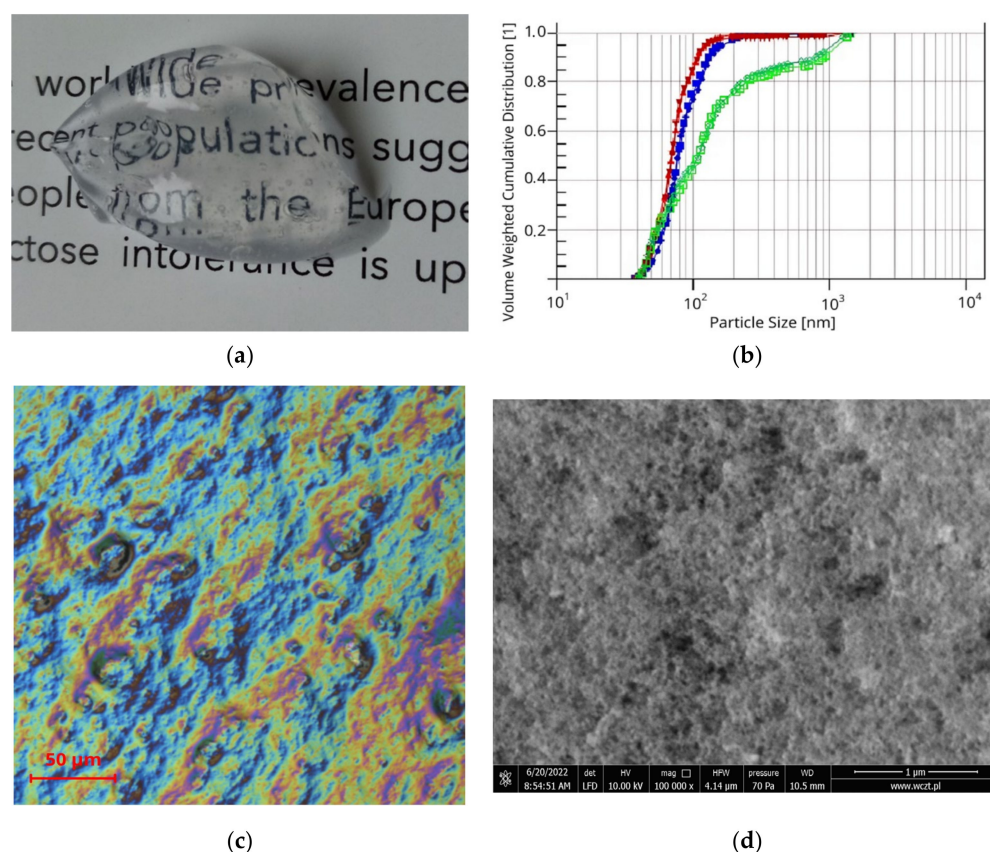


Figure 3. (a) Silica-based organogel appearance in macroscale. (b) Silica agglomerates particle size distribution: P3 (red), P4 (blue), P5 (green). (c) Surface of a propolis organogel (P2) in polarized light microscopy. (d) Structure of xerogel (P1) visualized by scanning electron microscopy.

This type of structure has different characteristics than linear polymeric structures. For example, a sponge structure with a relatively low solvent–gelator attraction can be

the reason for the occurrence of syneresis. An interesting observation is that the size distribution shows almost no enlargement of silica agglomerates between the organosol form (**P3**, median size 70.49 nm), and organogel (**P4**, median size 78.85 nm). The addition of ethanol or other solvents to the organogel affects the size of the agglomerates (**P5**, median size 109.65 nm).

3.3. Stability

Stability is one of the main features required for a new formulation to be introduced on the market. This is the reason why a couple of methods were used to examine the silica-based organogel stability in the study. So far, a few organogels with incorporated propolis extract have been used in long-term stability studies in a climatic chamber. Most of the tested samples were prone to syneresis and unstable in the long term (**P6–P8**). Only one of four tested propolis organogel compositions (**P2**) remained stable for 2 years of storage. It contained both a viscosity-increasing factor (macrogol 400) and a silica agglomeration factor (ethanol), in addition to propylene glycol as a main solvent. However, a high-volume mass storage and confection process may induce an enforced syneresis effect even in potentially stable formulations. To ensure the least possible mass instability, enforced syneresis was measured. Additional excipients, e.g., water, were checked in comparison to the base formulation, and their effect was examined (Figure 4). Some stabilization effect was gained with additional silica or NaHCO_3 as an alkalic substance. There was a strong effect increasing enforced syneresis after the addition of liquid substances such as water or macrogol 400. To ensure temperature influence on the organogel structure, sample **P2** was tested in a cycle stability study. There was no negative effect on the propolis organogel structure at temperatures ranging from 2 °C to 40 °C. In a short term of 10 min at 70 °C, there was no observed change in organogel appearance.

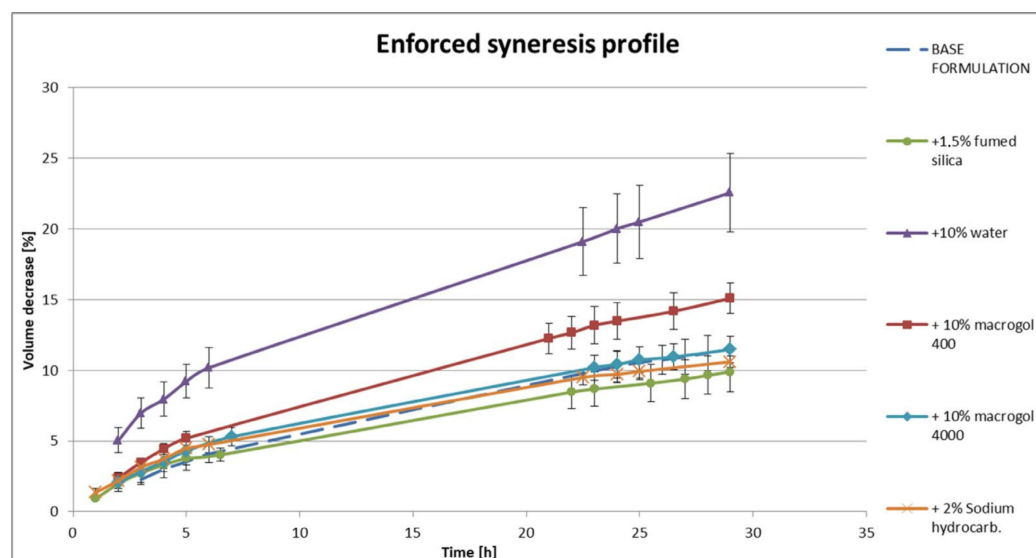


Figure 4. Enforced syneresis alteration by the addition of excipients to the base formulation (**P2**).

3.4. Rheology

Silica-based organogels reveal an interesting rheological shift after the addition of a basic salt solution. This organosol–organogel transition can be observed visually by flow loss under gravity force or via a viscosimeter by determination of rheological profile. The mass of pair **P9–P10** formulations before and after the transition reveals non-Newtonian, thixotropic, shear-thinning properties. However, there is an interesting change in the rheological profile ascending curve of organogel. The organosol shows a typical shear stress increase with increasing shear rate, whereas the organogel shows a decrease in shear

stress with increasing shear rate. There is also a significant viscosity increase after the transition (Figure 5).

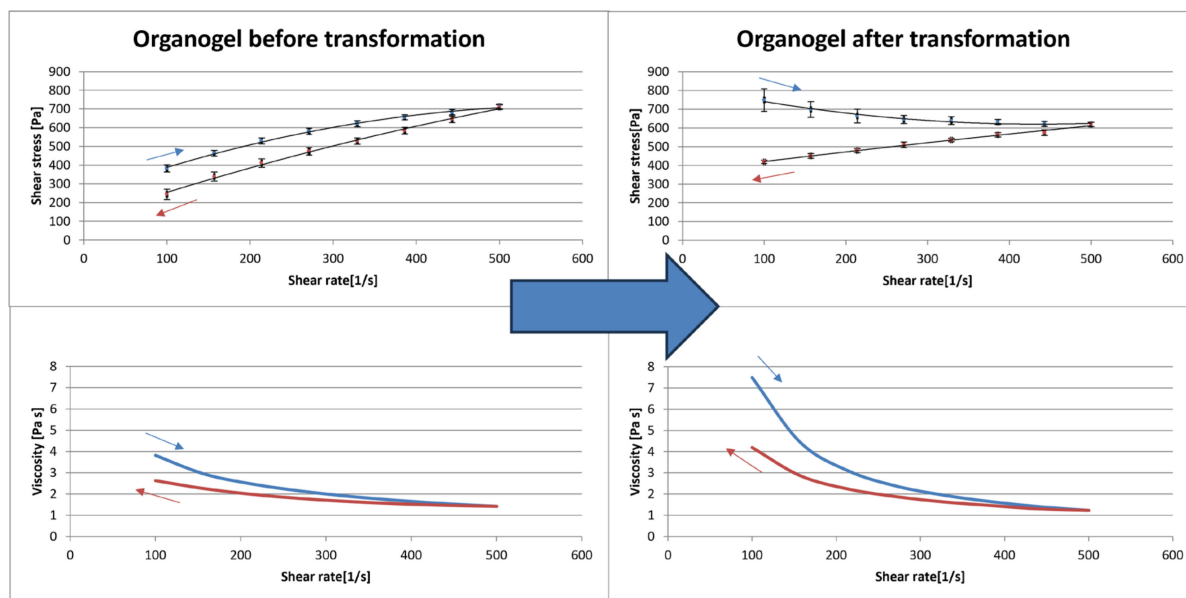


Figure 5. Rheology transformation, including shear stress and viscosity as a function of shear rate, was visualized in paired formulations: **P9** (left; before the addition of a basic salt solution) and **P10** (right; after the addition of a basic salt solution). Blue coloured dots and line—ascending curve; Red coloured dots and line—descending curve.

3.5. Release Studies

For the purpose of release studies, the organogel with 10% (*w/w*) ibuprofen was tested. Ibuprofen is widely used in dermal applications as a non-steroidal anti-inflammatory drug. Formulation **P11** is an opaque organogel with fully solubilized ibuprofen. Thus, it is an interesting subject for release studies and comparison to ibuprofen in the dermal form of hydrogel. As shown in Figure 6, the organogel containing ibuprofen reveals the first-order kinetics (the natural logarithm of a reactant concentration versus time was linear). It shows prolonged release with over 80% API released in 24 h and full release in 40 h.

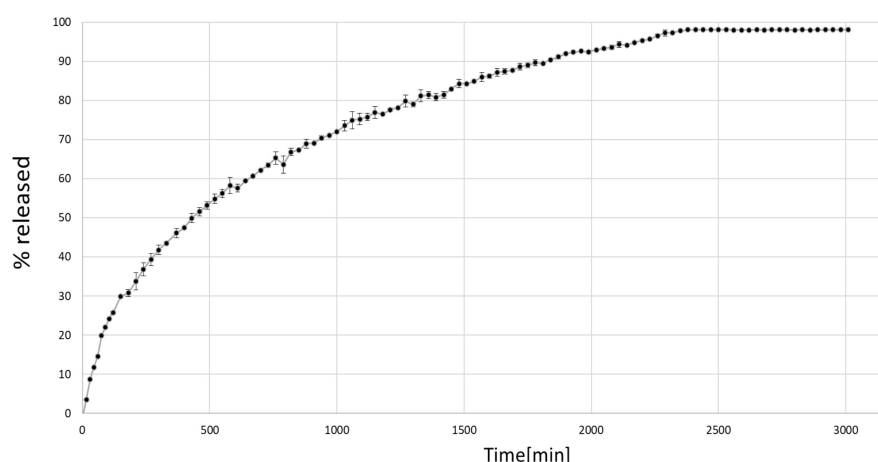


Figure 6. Release profile of ibuprofen from organogel formulation (**P11**).

3.6. Utility Studies

The introduction of new technology to the market requires several safety and efficiency studies, dependent on the product registration type and local legislation. Accordingly, a dermatological study (patch test) and antimicrobial study of the propolis organogel

were undertaken. The dermal application showed no sign of skin redness reaction after patch removal in all 15 participants. The solvents used in the organogel preparation are widely used and have well-established safety, thus, the organogel composition raises no serious toxicological concern in terms of user safety. The efficiency of the propolis organogel (P2) was examined in an antimicrobial study, as this API is usually applied in dermal infections and inflammations. The strongest activity of the propolis organogel was demonstrated against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. However, the *Pseudomonas aeruginosa* and mold strain of *Candida* were much less susceptible to the propolis organogel (Figure 7).

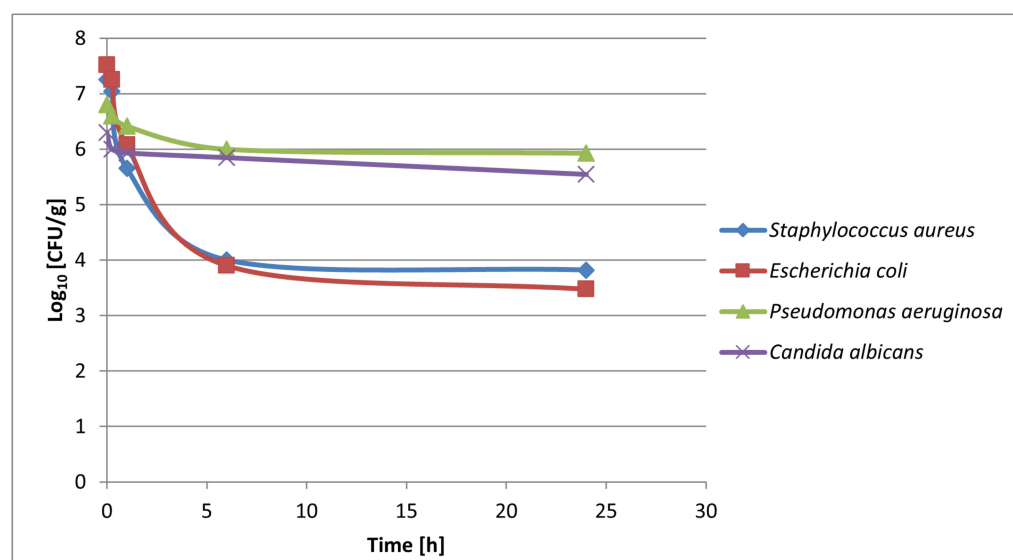


Figure 7. Antimicrobial effect of propolis organogel (P2).

4. Discussion

Silica gel formation in a pH-dependent manner for water dispersions is a well-examined subject. However, more complex mixtures of aqueous and organic media may affect silica interactions and thus require further investigation; for example, the addition of an alkalic solution to ethylene glycol results in a higher critical shear stress in a pH-dependent manner [19]. According to patent of fumed silica-based organogel, a pH range from 5 to 9 is considered as the best for gel formation with the maintenance of skin-acceptable application [17]. The transition from organosol to organogel in the presence of an alkalic substance and a weak acid salt water solution relies on the silica agglomerates interaction, possibly on electrostatic stabilization. Measurement of organogel zeta potential, however, ended with failure due to methodology limitations. Silica aggregates and agglomerates (>100 nm) in contrast to free silica particles can create a structured network [14]. This type of gel structurization was confirmed by microscopic techniques used in this study. The particle size distribution study brought interesting results proving no effect of the sol–gel transition on the particle size. Such a result may be due to the silica particle diffraction effect and change in the silica attraction forces rather than the growth of silica agglomerates. The permanent gel transition occurs only in the presence of a small amount of water (over 2% w/w), a base, and a weak acid. This rule includes an API in the role of a weak acid—as presented in the example of propolis. Another important factor for silica agglomerates stabilization is the chemical structure of the solvents present in the formulation. As shown in a simple example of glycerin, propylene glycol, and ethanol, used as solvents, affect the organogel structure in different ways. Ethanol affects firm structurization whereas glycerin affects the lowest silica agglomerates interaction. On the other hand, polyols like glycerin

or macrogols, play an important role in increasing viscosity of a composition, which may be crucial to increase its final stability. All the macroscale observed phenomena are based on fumed silica particles surface interactions. Silanol groups in the presence of nonpolar solvents tend to create hydrogen bonds, and in this way, incorporate them into the gelator net structures. However, the organic solvents capable of creating hydrogen bonds disrupt this interaction of silica particles. The viscous character depends on the size and type of silica particles [20]. The gelation in the presented technology is based on electrostatic charge. That is why the addition of a small amount of water is crucial to maintain the charge on the surface. Silanol groups are prone to charge generation in the presence of a strong base. Sodium or potassium counterions enhance silanol dissociation [21]. The increasing pH of silica gels favors the formation of a less consolidated net-like structure [22].

Silica hydrogels and organogels may easily undergo syneresis. The first reason is related to the already mentioned very weak bonding between the gelator and the mixture of the solvents. The second reason is related to the stability of equilibrium between the repulsive and attractive interactions of silica particles. The charge generated on the silica surface can stabilize the net structure but a high pH may determine the formation of siloxane groups from two silanol groups of adjacent silica particles, thus leading to the shrinking effect of the net structure [23,24]. In our study, we proposed two methods for the measurement of syneresis. The first one is the long-term stability study with a visual assessment of the natural syneresis at the time of the product storage. The second one is the enforced syneresis, which is a very important factor for the avoidance of “leakage” during the production process (improper suction force) or storage (high mass weight pressure) and even prediction of natural syneresis with time. Enforced syneresis helps to predict a potential natural syneresis in a much quicker way than prolonged stability studies [18]. That is why it is a very practical method for silica-based organogel formulations. In our study, we confirmed, however, that enforced syneresis cannot disqualify a given mixture as unstable when it is in a small amount. It is a rather comparative method for the prediction of the susceptibility of the tested formulations to natural syneresis. Besides the syneresis control, we were concerned with the thermostability of the silica-based organogel. The specific thermostability distinguishes the silica-based organogel from other types of organogels. The thermal restraint of PEG–EG mixtures influence is worth considering, as the tested **P2** propolis formulation contains a mixture of PEG and PG. M.T. Caccamo and S. Magazù demonstrated that adding EG to PEG increases H-bonded connectivity, resulting in higher resistance of the system to elevated temperatures [25]. Information on thermostability is important in terms of stability and mass packaging in the production process. The cycle stability study showed that lowering storage temperature did not affect the organogel stability.

Rheological study revealed interesting properties of the silica-based organogel and its sol–gel transformation. Viscosity and yield stress increase after the transition is preferable for gel-like drug or cosmetic bases. Occurring transition can be utilized to design proper production technology. Thixotropic properties of the gel state can be helpful in mass packaging as high viscosity is undesirable in this process. Using a stirrer and a piston to exert shear on a dosed mass would decrease its viscosity, thereby making the dosing process more reliable. The rheological study also revealed an atypical shift before and after the gelation. The shear-thinning property of the sol state is connected to the linear arrangement of silica particles, aggregates, and agglomerates after shear stress is increased. This is common for pseudoplastic masses, e.g., creams, pastes, and polymer solutions. However, shear stress reduction in the gel state after the shear rate increase is not common in gel structures. It may be connected to the temporary disruption of silica agglomerates

sponge-like network on the surface and the formation of a thin layer of liquid between the spindle and the organogel mass.

The release of ibuprofen from the silica-based organogel was characteristic of first-order kinetics. Compared to various hydrogels with this API, the organogel clearly slowed down the ibuprofen release [26]. This is explained by the good solubility of APIs in the solvent medium, APIs in silica surface adsorption, and the high viscosity of the organogel. However, a high concentration of the active ingredient in combination with prolonged 24 h release may benefit with possible dermal applications. In theory, the organogel solvents may increase permeability as enhancers, but further skin permeability studies are needed.

The utility of the organogel was examined using a substance very difficult to incorporate in a carrier, i.e., propolis. This natural mixture of resins, polyphenols, and waxes is hardly soluble both in water and in an oil phase. For the first time, an almost transparent, high-content propolis organogel in solubilized form was obtained (Figure 7). This substance is widely used in dermatology, urology, and stomatology. For example, propolis extracts are promising for the treatment of acne or herpes virus infections [27–29]. As presented in the utility studies, the propolis organogel shows both safety and efficiency in bactericidal activity.

5. Conclusions

The design and development of new technologies are very important to numerous branches of industry. Despite the unique qualities of many new technologies, it may be challenging to implement such technologies in commercial production and thus release the product to the market. In our work, we presented a simple, easy-to-produce, and potent carrier for poorly soluble APIs which shows similar characteristics to carbomer hydrogels in terms of transparency, viscoelastic properties, or alkali-dependent sol–gel transformation. The presented example of propolis organogel shows new possibilities for formulating with high doses of dermatological products. Its utility is proven by extended stability, safety, and efficacy studies. The syneresis phenomenon may be of concern, however, it is manageable with proper formulation, production process, and packaging of the product. Moreover, organic solvents used in organogel technology drastically lower the risk of microbial contamination in production. The production process of propolis organogel was established on a production scale and the final product (under the brand of Tisane®, propolis gel) was introduced into the market. Fumed silica-based organogels with safe organic solvents may be considered an alternative to the existing organogels and other advanced technologies in terms of industrial production or even as a pharmacy drug, produced manually by pharmacists.

Author Contributions: Conceptualization, G.S. and I.N.; methodology, G.S.; formal analysis, G.S.; investigation, G.S.; resources, G.S. and I.N.; data curation, G.S.; writing—original draft preparation, G.S.; writing—review and editing, G.S. and I.N.; supervision, I.N.; project administration, I.N.; funding acquisition, I.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author due to legal.

Acknowledgments: Special thanks for T. Sobisch and A. Uhl from LUM GmbH for samples tests in a performance presentation of LUMiSizer® 651.

Conflicts of Interest: Author Grzegorz Suwiński was employed by the company Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol Sp. z o. o. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

References

- Loftsson, T.; Brewster, M.E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development. *J. Pharm. Pharmacol.* **2010**, *62*, 1607–1621. [CrossRef] [PubMed]
- Sareen, S.; Joseph, L.; Mathew, G. Improvement in solubility of poor water-soluble drugs by solid dispersion. *Int. J. Pharm. Investig.* **2012**, *2*, 12. [CrossRef] [PubMed]
- Suwiński, G.; Nowak, I. Traditional and innovative technologies of drug delivery systems for poorly water-soluble substance. Case study on an example of propolis. *Przem. Chem.* **2021**, *1*, 600–605. [CrossRef]
- Singh, D.; Bedi, N.; Tiwary, A.K. Enhancing solubility of poorly aqueous soluble drugs: Critical appraisal of techniques. *J. Pharm. Investig.* **2018**, *48*, 509–526. [CrossRef]
- Kalepu, S.; Nekkanti, V. Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects. *Acta Pharm. Sin. B* **2015**, *5*, 442–453. [CrossRef]
- Lee, S.J.; Kim, J.A.; Kang, N.G.; Park, S.G.; Lee, C.K. Development of Lecithin Organogel to Improve Solubility of Genistein. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* **2015**, *41*, 201–208. [CrossRef]
- Mady, F.M.; Essa, H.; El-Ammawi, T.; Abdelkader, H.; Hussein, A.K. Formulation and clinical evaluation of silymarin pluronic-lecithin organogels for treatment of atopic dermatitis. *Drug Des. Dev. Ther.* **2016**, *10*, 1101–1110. [CrossRef]
- Jatav, M.P.; Mandlekar, R.; Ramteke, S. Formulation and Evaluation of Lecithin Organogel for Treatment of Arthritis. *Int. J. Adv. Sci. Res.* **2015**, *1*, 300–307. [CrossRef]
- Esposito, C.L.; Kirilov, P.; Roullin, V.G. Organogels, promising drug delivery systems: An update of state-of-the-art and recent applications. *J. Control. Release* **2018**, *271*, 1–20. [CrossRef]
- Sowa-Kasprzak, K.; Zwawiak, J.; Zaprutko, L. Organozele jako nowoczesne nośniki leków. *Polimery* **2018**, *63*, 169–177. [CrossRef]
- Islam, M.T.; Rodríguez-Hornedo, N.; Ciotti, S.; Ackermann, C. Rheological characterization of topical carbomer gels neutralized to different pH. *Pharm. Res.* **2004**, *21*, 1192–1199. [CrossRef] [PubMed]
- Scherer, G.W. Mechanics of syneresis I. *Theory. J. Non Cryst. Solids* **1989**, *108*, 18–27. [CrossRef]
- Martinez, R.M.; Rosado, C.; Velasco, M.V.R.; Lannes, S.C.S.; Baby, A.R. Main features and applications of organogels in cosmetics. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2019**, *41*, 109–117. [CrossRef]
- Scribd.com. Available online: <https://www.scribd.com/document/380547530/Technical-Overview-AEROSIL-Fumed-Silica-En.pdf> (accessed on 29 December 2024).
- Patel, A.R.; Mankoč, B.; Bin Sintang, M.D.; Lesaffer, A.; Dewettinck, K. Fumed silica-based organogels and “aqueous-organic” bigels. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 9703–9708. [CrossRef]
- Osmalek, T.; Froelich, A.; Jadach, B.; Ancukiewicz, K.; Gadziński, P. Rheological Characteristics of Novel Meloxicam-Loaded Complex Organogels Based on Fumed Silica and Poloxamer. *Curr. Drug Deliv.* **2018**, *15*, 686–697. [CrossRef]
- Suwiński, G. Organogel composition comprising colloidal silica and at least one organic solvent. *Wiadomości Urzędu Patentowego UPRP* **2022**, *43*, 5.
- Wilhelm, S.; Kind, M. On the Relation between Natural and Enforced Syneresis of Acidic Precipitated Silica. *Polymers* **2014**, *6*, 2896–2911. [CrossRef]
- Shan, L.; Tian, Y.; Jiang, J.; Zhang, X.; Meng, Y. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects Effects of pH on shear thinning and thickening behaviors of fumed silica suspensions. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2015**, *464*, 1–7. [CrossRef]
- Kawaguchi, M. Stability and rheological properties of silica suspensions in water-immiscible liquids. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2020**, *278*, 102139. [CrossRef]
- Singappuli-Arachchige, D.; Slowing, I.I. Control of interfacial pH in mesoporous silica nanoparticles via surface functionalization. *J. Chem. Phys.* **2020**, *152*, 034703. [CrossRef]
- Sahabi, H.; Kind, M. Consolidation of Inorganic Precipitated Silica Gel. *Polymers* **2011**, *3*, 1423–1432. [CrossRef]
- Scherer, G.W. Syneresis in silica gel. *MRS Online Proceed. Libr.* **1988**, *121*, 179–186. [CrossRef]
- Wilhelm, S.; Kind, M. Influence of pH, Temperature and Sample Size on Natural and Enforced Syneresis of Precipitated Silica. *Polymers* **2015**, *7*, 2504–2521. [CrossRef]
- Caccamo, M.T.; Magazù, S. Thermal restraint on PEG-EG mixtures by FTIR investigations and wavelet cross-correlation analysis. *Polym. Test.* **2017**, *62*, 311–318. [CrossRef]
- Mikušová, V.; Ferková, J.; Žigayová, D.; Krchňák, D.; Mikuš, P. Comparative Study of Polysaccharide-Based Hydrogels: Rheological and Texture Properties and Ibuprofen Release. *Gels* **2022**, *8*, 168. [CrossRef]

27. Mazzarello, V.; Donadu, M.G.; Ferrari, M.; Piga, G.; Usai, D.; Zanetti, S.; Sotgiu, M.A. Treatment of acne with a combination of propolis, tea tree oil, and Aloe vera compared to erythromycin cream: Two double-blind investigations. *Clin. Pharmacol.* **2018**, *10*, 175–181. [[CrossRef](#)]
28. Vynograd, N.; Vynograd, I.; Sosnowski, Z. A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine* **2000**, *7*, 1–6. [[CrossRef](#)]
29. Arenberger, P.; Arenbergerova, M.; Hladíková, M.; Holcova, S.; Ottillinger, B. Comparative Study with a Lip Balm Containing 0.5% Propolis Special Extract GH 2002 versus 5% Aciclovir Cream in Patients with Herpes Labialis in the Papular/Erythematous Stage: A Single-blind, Randomized, Two-arm Study. *Curr. Ther. Res.* **2018**, *88*, 1–7. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Article

Innovative Honey-Based Product and Its Beneficial Effects Measured by Modern Biophysical and Imaging Skin Techniques

Grzegorz Suwiński ^{1,2,*}  and Izabela Nowak ^{1,*} 

¹ Department of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań, Poland

² Research and Development Department, Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol Sp. z o. o, Święty Wojciech 29, 61-749 Poznań, Poland

* Correspondence: grzegorz.suwinski@amu.edu.pl (G.S.); nowakiza@amu.edu.pl (I.N.)

Abstract: Background: Honey is widely recognized for its potential benefits in skincare, yet its incorporation into formulations is challenging due to its stickiness. This study aimed to evaluate the effects of hand creams with varying concentrations of multifloral honey (0%, 5%, 10%, and 15% *w/w*) on skin parameters and to assess their application characteristics. Methods: A total of 24 volunteers were divided into two groups, each receiving a blinded pair of creams (0%/10% or 5%/15% honey) to apply on their left and right hands. Instrumental methods (Corneometer[®], Tewameter[®], Cutometer[®], Visioscan[®], and Visioline[®]) were used to measure skin parameters at the baseline, 15 min after the first application, and after 4 weeks of regular use. Sensory characteristics were evaluated through participant questionnaires. Results: After 4 weeks, honey-infused creams showed notable improvements in skin moisturization (up to 29.7%), smoothness (up to 21.3%), wrinkle area reduction (up to 21.4%), and mean wrinkle depth reduction (up to 11.7%). Among these, the increases in moisturization and reductions in wrinkle depth were statistically significant compared to the placebo. The sensory evaluations revealed no significant differences between formulations, highlighting the vehicle's effectiveness in minimizing the stickiness typically associated with honey. Conclusions: This study highlights the efficacy of honey-enriched hand creams in enhancing skin parameters over time while maintaining favorable sensory characteristics. These findings support the use of honey in dermatological formulations and provide insights into overcoming its formulation challenges.



Citation: Suwiński, G.; Nowak, I. Innovative Honey-Based Product and Its Beneficial Effects Measured by Modern Biophysical and Imaging Skin Techniques. *Pharmaceuticals* **2024**, *17*, 1709. <https://doi.org/10.3390/ph17121709>

Academic Editor: Simona Martinotti

Received: 9 October 2024

Revised: 2 December 2024

Accepted: 12 December 2024

Published: 18 December 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Keywords: formulation; honey; hydration; anti-wrinkle; TEWL; stickiness; skin

1. Introduction

The global natural cosmetics market is experiencing rapid growth. According to forecasts, the market is projected to reach USD 48.4 billion in 2023 and is expected to further increase to USD 79.6 billion by 2033, with a compound annual growth rate of 5.1% [1]. Skincare products are estimated to constitute a significant portion of the cosmetic market, accounting for around 36% of its total value [2]. This attractive business sector must address evolving consumer demands, particularly in terms of product concept, packaging, effectiveness, trends in active substances, and formulation application parameters [3].

Despite their considerable marketing potential and relatively high efficacy, natural ingredients may pose challenges in maintaining the stability and sensory quality of the final cosmetic product. As exemplified in this paper, the formulation of cosmetic products with a high content of bee honey presents particular challenges. Honey consists of over 181 substances, many of which have positive effects on the skin. Notable among these substances are organic acids, flavonoids, proteins, ascorbic acid, carotenoids, glucose, and fructose [4]. While these carbohydrates often constitute the majority of the composition (approximately 70% *w/w*), their proportions can vary based on the origin of the honey [5]. Although the simple sugars in honey are potent humectants, they can also lead to undesirable stickiness

after cosmetic application [6]. This stickiness is attributed to the low glass transition temperature, high viscosity, and hygroscopic nature of glucose and fructose [7,8]. When cosmetics with a high honey content are applied, water can evaporate, leaving honey residue on the stratum corneum. At a microscopic level, glucose and fructose do not solidify into a brittle state; instead, they become glassy, viscous, and sticky. This phenomenon is responsible for a sticky sensation that many consumers may find unpleasant [9]. However, this effect can be managed through various formulation methods, such as including emollients in anhydrous formulations to mitigate the stickiness caused by honey [10]. Nevertheless, reports occasionally mention the usage of popular cosmetic formulations with a constant water phase, including solutions, gels, and O/W (oil in water) emulsions with a high (>5–10% *w/w*) honey content.

Pavlačková and coworkers investigated the short-term effects of 5% and 10% (*w/w*) honey O/W emulsions. The moisturizing effect on the skin increased with higher concentrations of honey, although sensory analysis showed no significant differences between the formulations. The team also demonstrated the impact of honey type on skin parameters: floral honey, containing more reducing sugars, had a greater effect on skin hydration than forest honey, which is lower in these molecules [11]. Another study by Isla and colleagues examined formulations containing various types of honey at a level of 15% (*w/w*). Each formula exhibited high moisturization effects (approximately 50%), but only *Tetragonula carbonaria* honey demonstrated exceptional DPPH free radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) sequestration ability (71% inhibition) [12].

In the literature, honey is a well-studied substance that has demonstrated multiple positive effects on the skin, particularly as a cosmetic ingredient and a wound dressing. In addition to its moisturizing properties, it exhibits potent antimicrobial and regenerative impacts due to its high osmolarity and enzyme content, particularly lysozyme and glucose oxidase [13]. The remarkable healing capabilities of honey, particularly in higher concentrations, encompass wound regeneration [14]. Beyond traditional medical applications, honey holds potential in facial care cosmetics, including wrinkle reduction, pore refinement, and sebum control [15]. This paper presents the application effects of short-term and long-term use, together with the questionnaire results, on skin biophysical parameters for O/W hand cream formulations with varying honey contents (0%, 5%, 10%, 15% *w/w*). One can expect that the ingredients of honey will use the osmotic power of sugar as well as its humectant properties to soften the skin; thus, the cosmetic properties will be enhanced. Our study has several strengths, i.e., this is the first study describing the dynamic trends of multiple skin barrier parameters, supporting the statement that honey controls skin hydration. Additionally, this study aims to identify the optimal concentration of honey for new products introduced to the market.

2. Results

Individual responses related to the use of cosmetics are depicted in Figure 1. Among the participants, 74% did not recognize honey as a component in cosmetics they previously used. A comparison of daily cosmetic care habits revealed greater interest in facial care (83% of respondents used it regularly) as opposed to hand care (26% of respondents used it regularly).

The questionnaires did not indicate any statistically significant differences ($p > 0.05$) in the characteristics of hand cream pairs (left and right hand) within both Group A (0%/10% *w/w* honey) and Group B (5%/15% *w/w* honey). The evaluation of stickiness, spreadability, absorption rate, and the sensation of a hydrating film on the skin after cream usage is presented as group means in Figure 2.

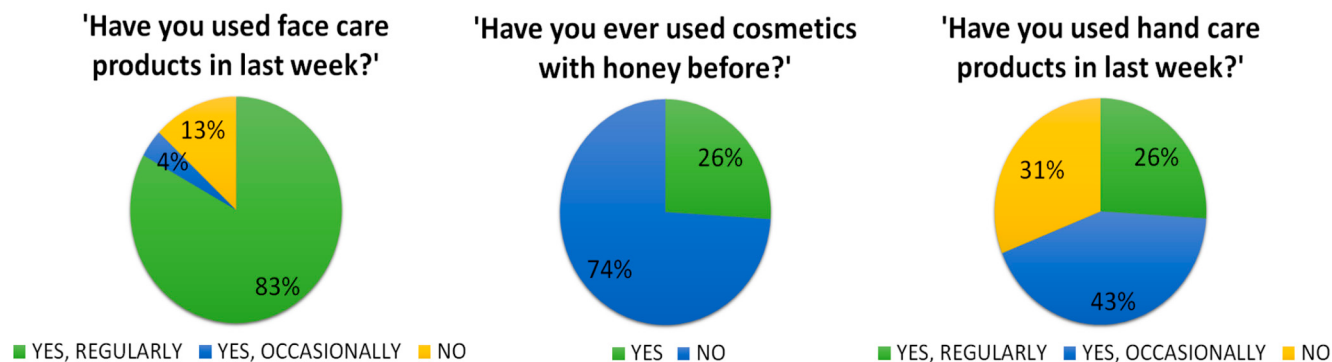


Figure 1. Questionnaire responses of the examined group.

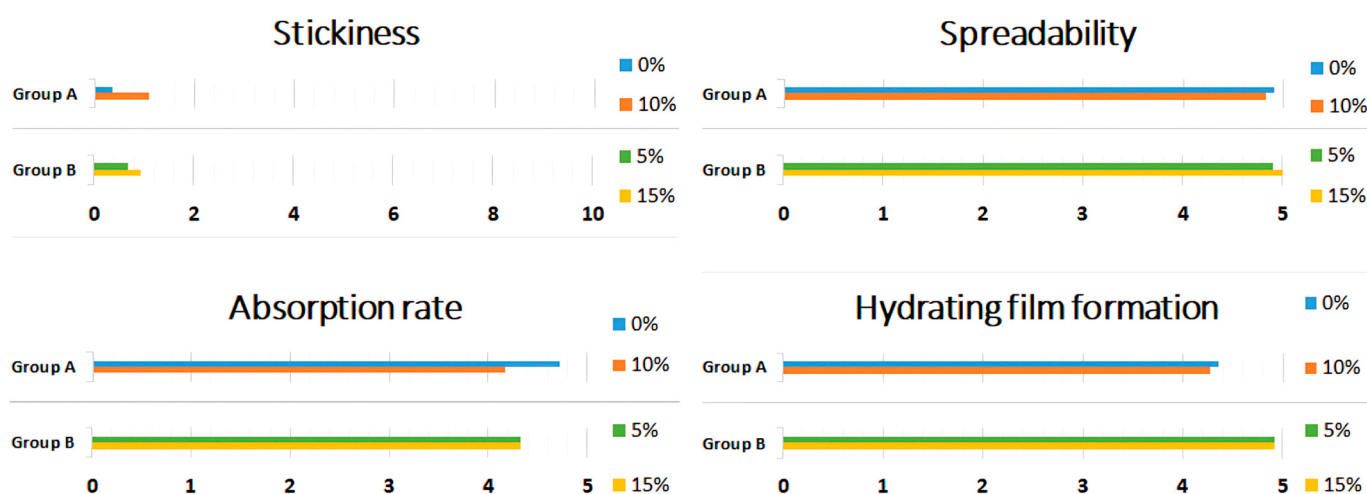


Figure 2. Honey cream sensations were determined employing response ratings (0–5), presented in tested pairs: Group A (0%, 10% *w/w* honey) and Group B (5%, 15% *w/w* honey).

Monitoring stratum corneum hydration, TEWL (transepidermal water loss), skin elasticity, and microrelief are used to evaluate skin function. A quantitative description of these parameters will facilitate a comprehensive evaluation of skin status. The skin hydration effects of the four tested formulations are presented in Figure 3. The ANOVA results showed statistically significant differences in terms of the honey percentage: $F(3,66) = 7.34$; $p < 0.01$; $\eta^2 = 0.4$, in time of examination: $F(2,66) = 56.04$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.84$, and in percentage with time dependence: $F(6,66) = 3.09$; $p < 0.01$; $\eta^2 = 0.22$. All groups had no statistical differences after 15 min of initial usage ($p > 0.05$). However, significant differences were observed between the placebo (0% *w/w* honey) and each other cream after four weeks of regular use, with the effect size correlating with the cream percentage (*w/w*): 5% ($d = 0.72$), 10% ($d = 0.97$), and 15% ($d = 1.27$). Post hoc analysis with Bonferroni correction revealed a significant hydration increase between the placebo and 15% *w/w* honey cream ($p < 0.001$). By comparing average values before and after four weeks, the highest skin hydration effect was exhibited by the 15% *w/w* honey cream (+29.7% a.u.) compared to the placebo (+10.6% a.u.).

Skin barrier function, examined with the Tewameter probe, i.e., the measurement of the transepidermal water loss, is presented in Figure 4. The ANOVA showed statistically significant differences in terms of the honey percentage: $F(3,66) = 3.04$; $p < 0.05$; $\eta^2 = 0.22$, and in the time of examination: $F(2,66) = 6.58$; $p < 0.01$; $\eta^2 = 0.37$. Bonferroni correction revealed no differences between groups. After the first use, a single statistical difference was identified between the 5% *w/w* and 15% *w/w* groups $t(11) = 2.67$; $p < 0.05$. Four weeks of regular use of the hand creams generated a decrease in TEWL ($p < 0.05$), except for the 15% *w/w* honey cream, which had no statistically significant effect ($p > 0.05$). There was no difference between the placebo, 5% *w/w*, and 10% *w/w* honey creams ($p > 0.05$).

However, the 15% *w/w* honey cream differed from the placebo ($p < 0.05$; $d = 0.76$), the 5% *w/w* honey cream ($p < 0.05$; $d = 1.05$), and the 10% [*w/w*] honey cream ($p < 0.05$; $d = 0.78$). The reduction in TEWL after four weeks was similar for the placebo (−27.8%) and the 5% honey cream (−25.7%).

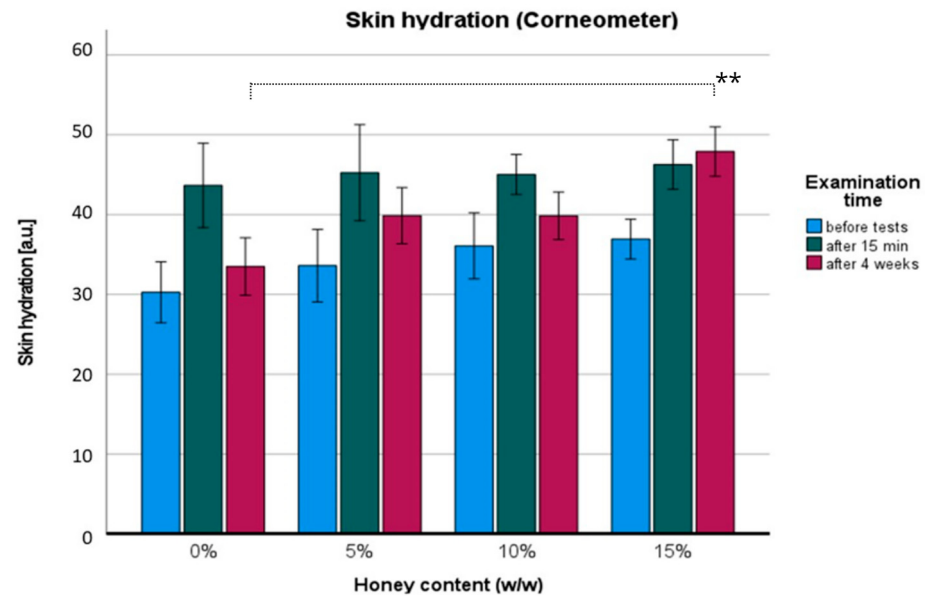


Figure 3. Skin hydration: before (blue), 15 min after first use (dark green), and after four weeks of regular use (maroon red) of hand honey creams. Significance level: ** $p < 0.001$.

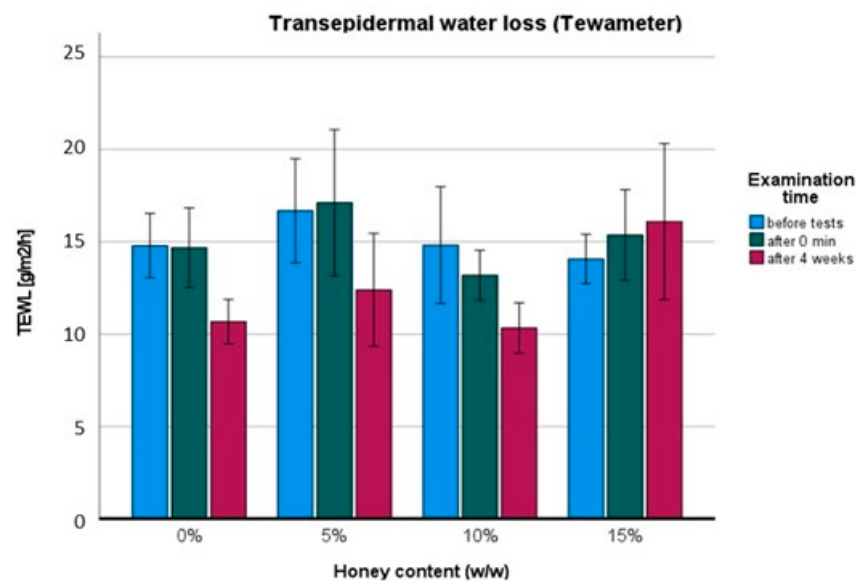


Figure 4. Transepidermal water loss: before (blue), 15 min after first use (dark green), and after four weeks of regular use (maroon red) of hand honey creams.

Skin elasticity, calculated using the Cutometer method, is visualized in Figure 5. The ANOVA showed statistically significant differences in terms of time: $F(2,66) = 6.74$; $p < 0.01$; $\eta^2 = 0.38$. However, the *t*-tests did not reveal any statistically significant differences between the groups 15 min after the first use and after four weeks of regular use.

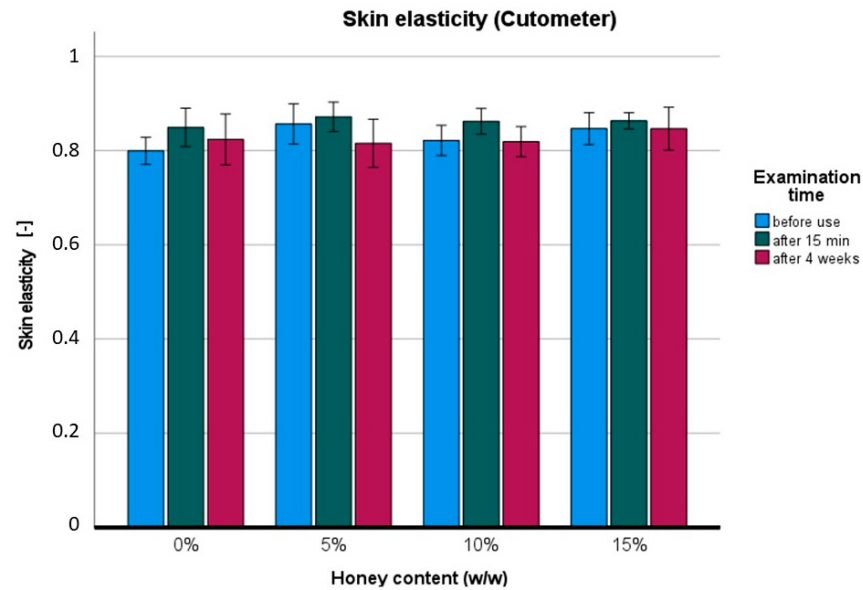


Figure 5. Skin elasticity: before (blue), 15 min after first use (dark green), and after four weeks of regular use (maroon red) of hand honey creams.

The skin smoothness parameter was obtained using Visioscan (Figure 6). The ANOVA revealed a statistically significant difference over time: $F(1,11) = 5.841$; $p < 0.05$; $\eta = 0.35$, as well as with varying percentages of honey: $F(3,33) = 2.923$, $p < 0.05$, $\eta = 0.210$. There were no significant differences observed between groups before the test, but significance was identified with Student's *t*-tests after four weeks between the 5% *w/w* and 10% *w/w* groups: $t(11) = -4.732$; $p < 0.001$, as well as between the 10% *w/w* and 15% *w/w* groups: $t(11) = 2.453$; $p < 0.05$. The only statistically significant effect of the treatment was observed in the 5% *w/w* group: $t(11) = 2.816$; $p < 0.05$. With the 5% *w/w* honey cream, skin smoothness improved by an average of 21.3% after 4 weeks of regular use. An example displaying a 43% improvement is depicted in Figure 7. Additionally, liquid water uptakes action on the surface of the stratum corneum to reduce light reflection and backscatter. This visible decrease in internal scattering is a result of hydration.

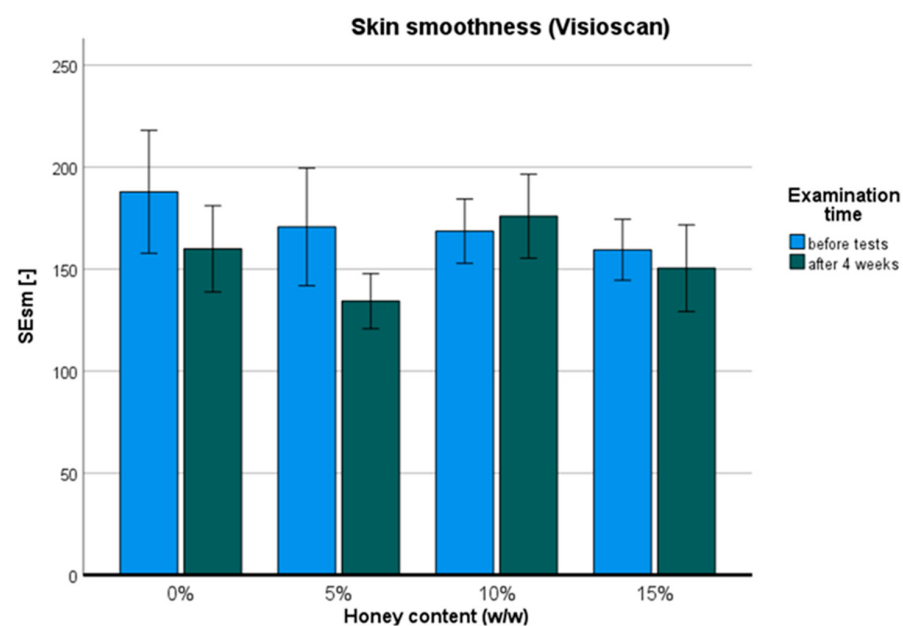


Figure 6. Skin smoothness: before (blue) and after four weeks of regular use (dark green) of hand honey creams.

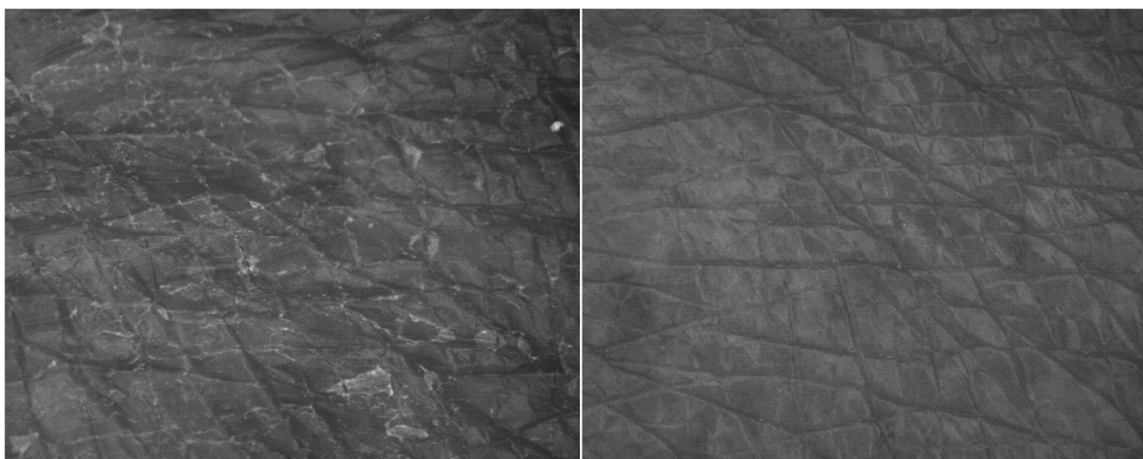


Figure 7. A single example of skin smoothness improvement by 43% presented with Visioscan VC 98 USB camera before treatment (left) and after four weeks of 5% (*w/w*) honey cream treatment (right).

The skin wrinkle area is shown in Figure 8. The ANOVA revealed statistically significant differences in terms of time: $F(1,11) = 11.325$; $p < 0.01$; $\eta = 0.507$. Slightly distinguishable statistical differences were observed after four weeks of use between the 0% *w/w* and 15% *w/w* groups $t(11) = 2.175$, $p = 0.05$. However, differences were found within individual groups before and after honey cream treatment, specifically in the 5% *w/w* group $t(11) = 2.531$; $p < 0.05$, the 10% *w/w* group $t(11) = 3.193$; $p < 0.01$, and the 15% *w/w* group $t(11) = 2.596$; $p < 0.05$. No statistical difference was observed in the placebo group. The skin wrinkle area was reduced by around 20% (−18.25% to −21.29%) after four weeks of using each honey cream.

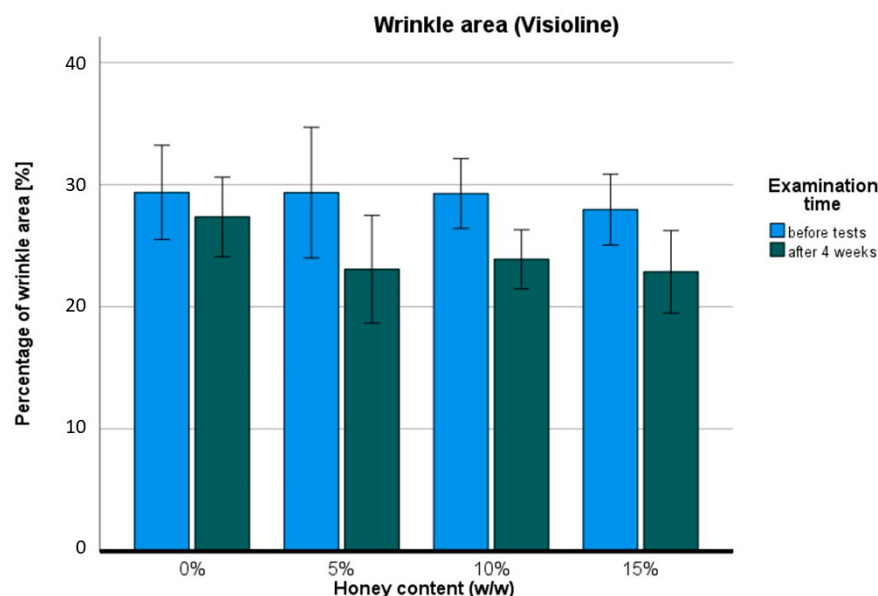


Figure 8. Wrinkle area: before (blue) and after four weeks of regular use (dark green) of hand honey creams.

The wrinkle depth of the hand skin is illustrated in Figure 9. The ANOVA revealed statistically significant differences in terms of the following variables: time $F(1,11) = 13.116$; $p < 0.01$; $\eta = 0.544$, in the percentage of honey: $F(3,33) = 17.575$; $p < 0.001$; $\eta = 0.615$, and the percentage with time dependence $F(3,33) = 3.44$; $p < 0.05$; $\eta = 0.238$. Post hoc analysis proved differences between the placebo and 5% *w/w* honey cream ($p < 0.001$), as well as the 15% *w/w* honey cream ($p < 0.05$) and between the 5% *w/w* and 10% *w/w* honey cream ($p < 0.05$). *t*-tests

indicated differences in every group compared to the placebo: 5% *w/w*: $t(11) = 6.266$; $p < 0.001$, 10% *w/w*: $t(11) = 3.778$; $p < 0.01$, and 15% *w/w*: $t(11) = 3.892$; $p < 0.01$, respectively. When comparing individual groups before and after the honey treatment, statistical differences were found in the 10% *w/w* group $t(11) = 2.917$; $p < 0.05$ and the 15% *w/w* group $t(11) = 2.456$; $p < 0.05$. Wrinkle depth was reduced by around 10% (10.5–11.7%) with honey creams, while the placebo seemed to have the opposite effect (+5.4% wrinkle depth). An example of skin analysis with Visioline VL 650-Quantridies is presented in Figure 10.

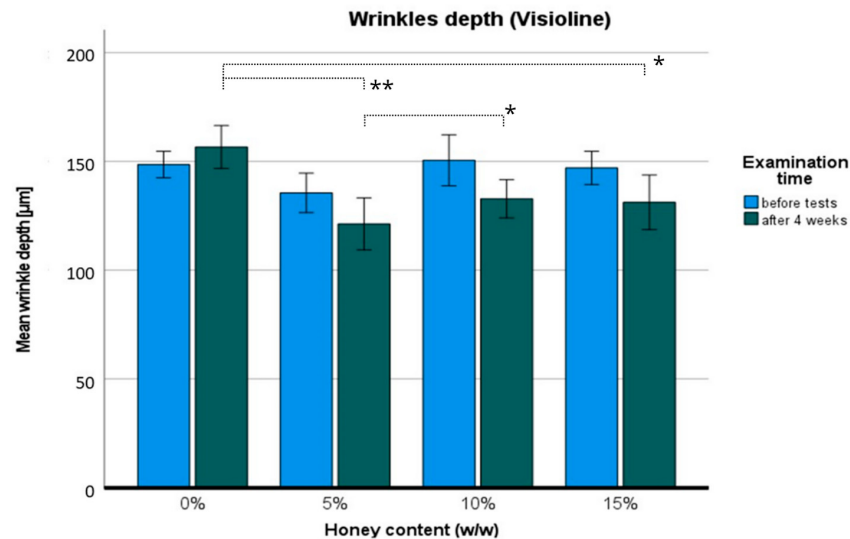


Figure 9. Wrinkles depth: before (blue) and after four weeks of regular use (dark green) of hand honey creams. Significance level: * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$.

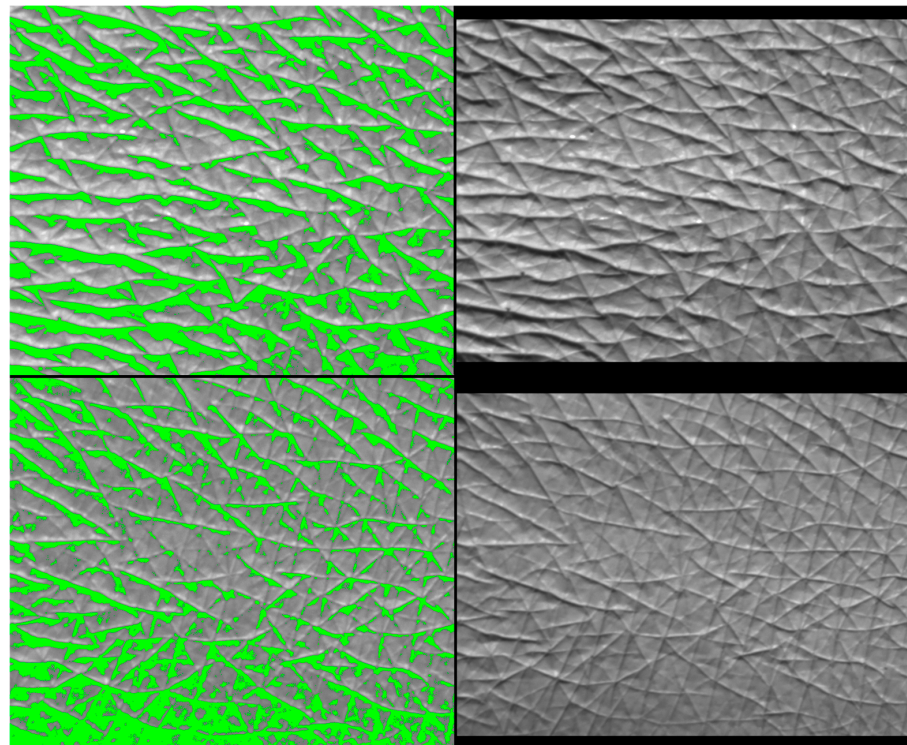


Figure 10. An example of mean wrinkle depth improvement by 22,7% with 10% honey cream care, visualized with Visioline VL 650–Quantridies by skin replica illumination, camera registration (right-side pictures), and computer analysis (left-side pictures). The upper pictures present the skin surface before treatment and the bottom pictures present the skin after 4 weeks of honey cream treatment.

3. Discussion

Honey is well known for its health benefits, both in food and cosmetics. According to a survey of 600 Polish respondents, 95.9% of the population included honey in their diet [16]. Honey is also a popular and commonly available cosmetic ingredient in the market. Its attractiveness in cosmetics was confirmed by approximately two-thirds of a group examined by Żak and Przybyłowski [3]. In a Polish study involving 487 people, 42.9% declared using cosmetics with honey in the past [17]. In our study, only 26% of participants declared usage of honey-infused cosmetics in the past, which could be attributed to the small study group. However, this lower result is desirable as it helps to reduce bias by minimizing preconceived notions about the tested cosmetics.

A study in France examined the use of different cosmetic categories. Among adult women, 77% used face moisturizers and 81% used hand moisturizers [18]. In our study, the results were quite similar but opposite in categories. More participants used face moisturizers (87%) compared to hand moisturizers (69%). This discrepancy could be attributed to different cosmetic usage habits among French and Polish consumers.

The sensory and textural parameters of cosmetic formulations are commonly analyzed using sensory panelists with a rating scale and instrumental analysis with a texturometer [19]. For this study, we chose a sensory panel to reveal the complex and subjective perceptions of consumers. The four formulations were assessed as similar, with no statistically significant differences in the evaluation of sensory parameters for each cream. This desirable outcome indicates that the chosen cream base effectively masked the honey content, particularly in terms of stickiness.

Honey's composition, rich in sugars, is believed to act as a nourishing and moisturizing active substance. The presence of free hydroxyl groups in reducing sugars attracts water through hydrogen bonding, increasing the overall water content in the stratum corneum. However, the level of humectant moisturization dependent on honey percentage may be debatable. For instance, Jarzabek-Perz and coworkers did not find a statistically significant difference between the use of 10% and 30% (*w/w*) gluconolactone in a facial formulation [20]. Our study showed a growing moisturizing effect in a honey percentage-dependent manner after a four-week usage period. The higher the honey concentration, the greater the increase in skin moisture detected with prolonged cream use. This could be explained by sugar accumulation in the stratum corneum or by the nourishing effect of other honey components, such as polyphenols. In contrast, short-term use did not show any statistically significant moisturization differences between the groups. This is expected, as each formulation provided additional water, instantly correcting the skin's condition.

Different results were obtained with the Tewameter apparatus. The TEWL parameter reflects the skin's barrier function and is useful for measuring barrier creams, especially those containing ceramides, sebum, and the NMF (Natural Moisturizing Factor). Effective ceramide creams have been shown to reduce TEWL in both the short term (−22% reduction) and long term (−68% reduction) [21,22].

In our study, four weeks of regular use caused decreased transepidermal water loss for each group except for the 15% *w/w* honey cream, which showed no statistically significant difference before and after treatment. Similarly, no statistical difference was observed in each group 15 min after the first use. A reduction in TEWL in moisturizing O/W creams was not anticipated. However, the phenomenon observed with the 15% *w/w* honey cream is surprising. Typically, a high concentration of humectant increases skin hydration and reduces TEWL, but there are cases where these substances do not positively affect the improvement in the skin barrier [23]. An excessively high concentration of humectant could potentially act similarly to weak penetration enhancers, disrupting the lipid structure of the epidermis [24]. However, there are no scientific reports supporting these hypotheses with regard to honey. Further studies are required to understand this phenomenon.

Skin elasticity is closely related to the dermis layer of the skin, where collagen and elastic fibers are present. These flexible structures are synthesized by fibroblasts [25]. The mechanism of activating fiber synthesis or decreasing degradation is therefore related to pharmacodynamic actions rather than overall skin moisturization. It is challenging for scientists to develop a formulation that significantly affects skin elasticity, usually requiring pharmacologically active substances incorporated into the appropriate vehicle. For instance, G. Jeswani and S. Saraf prepared nanosized ethosomes with *Curcuma longa* L. extract. After two weeks, the active-filled cream resulted in a 15.4% increase in elasticity, while the placebo cream showed a 10.7% response ($p < 0.05$) [26]. In another study involving saffron extract and avocado oil, scientists achieved similar statistically significant effects after 6 and 12 weeks of cream use [27]. In our study, the use of honey creams was not associated with an increased elasticity response after 4 weeks of use ($p < 0.05$). The slight response connected to time could be attributed to improvements after 15 min of initial use, possibly due to short-term stratum corneum moisturization.

Ambiguous results were obtained with the Visioscan VC 98 USB probe, which measures skin smoothness by calculating skin gray tones directly from live skin images. Taking into account the skin condition before and after four weeks of hand treatment, a statistically significant change in smoothness was observed only with the 5% (w/w) honey cream. This may be connected to the relatively small study groups. However, the observed phenomenon could be explained by the optimum ratio of water and humectant repeatedly delivered into the stratum corneum, as both too low and too high humectant contents were less efficient in smoothing the top layer of the skin. On the other hand, an average improvement level of 21.3% for the 5% w/w honey cream is rare. When considering commercial anti-wrinkle creams, samples collected by Portuguese scientists rarely demonstrated statistically significant effects on smoothness [28]. Moreover, creams containing the popular anti-wrinkle substance retinyl palmitate were found to improve facial skin smoothness by only 6.45% after 1 month [29].

Considering the unclear results obtained with the Visioscan VC 98 USB, the Visio-line VL 650—Quantridies was used to clarify the evidence of honey's anti-wrinkle action. The difference between these two methods lies in calculations and skin imaging, as the Visioline VL 650 reads images obtained from skin replicas, which may reduce deviations from live imaging. Visioline is also a good method to measure precise wrinkle characteristics, such as mean wrinkle depth. There was a statistically significant reduction of around 10% in mean wrinkle depth for all the examined honey creams, with no significant effect observed for the placebo cream. These results confirm the contribution of honey in smoothing the skin surface after four weeks. Among bee products, the anti-wrinkle action has been confirmed for bee venom, which reduced facial mean wrinkle depth after 12 weeks with statistical significance [30]. Given the studies presented herein, honey's position in commercial anti-wrinkle skincare products could be elevated. Further investigations are warranted.

4. Materials and Methods

4.1. Formulations Preparation

The composition of the O/W hand cream was experimentally determined to minimize the perception of stickiness upon skin application. The composition was devised in four different ratios: 0%, 5%, 10%, and 15% (w/w) honey content. The formulations were prepared in small batches using the hot-emulsification and homogenization process under controlled laboratory conditions in Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol Sp. z o. o. The formulation of the cosmetic products was in accordance with Regulation (EC) No 1223/2009/EC of the European Parliament and the Council of 30 November 2009 on cosmetic products with subsequent updates. The ingredients utilized in the cream vehicle were of cosmetic or higher-grade quality and included purified water (Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol, Poznań, Poland), Olive Oil (Alfa Sagittarius, Kraków, Poland), Caprylic/Capric Triglyceride (Masso, Warszawa, Poland), Cetearyl Alcohol (Standard, Lublin City, Poland), Stearic Acid (Standard, Lublin City, Poland), Symbiomuls GC (Adara,

Warszawa, Poland), Kahlwax 8108 (Biesterfeld, Hamburg, Germany), Glycerin (Oqema, Korschbroich, Germany), Vivastar CS 302 SV (JRS, Warszawa, Poland), Dub Diol (Brenntag, Kędzierzyn-Koźle, Poland), Symsave H (Aromat-Vertex, Kościan, Poland), Beta-Carotene (Jar Aromaty, Warszawa, Poland), and Parfum (Nordmann, Warsaw, Poland). Parfum and dye were added to effectively mask the scent and color of honey in adherence to this study's single-blinded standards.

The multifloral honey (Marian Sikora) was sourced from the Greater Poland region in Poland and complied with the PN-88/A-77626 Polish Standard and fulfills the Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey (12.1.2002 L10/47-52) and Revised Codex Alimentarius standard for honey 12-1981 standards and standard methods (Vol. 11). The collected batch of honey underwent a comprehensive examination according to specific parameters, yielding the following results: 17.6 (*w/w*) water content, 15.92 mg/kg hydroxymethylfurfural, 70.71 (*w/w*) reducing sugars (glucose and fructose), 26.19 diastatic number, 0.27 mS/cm electrical conductivity, and less than 0.5% (*w/w*) saccharose and melezitose (Supplementary S1).

In the cream variations containing 0–10% (*w/w*) honey, the gap in the content was replaced with purified water, adjusted to constitute 15% (*w/w*) of the formulation. The study samples were filled into pharmaceutical-grade aluminum 30 g tubes. These tubes were sealed and appropriately labeled to conform to the single-blinded study protocol. The stability of the cosmetic formulations and their compatibility with packaging were assessed before this study to ensure sample integrity throughout the application period.

4.2. Study Design

The formulations underwent testing encompassing microbiology, preservation (challenge test), dermatology (patch test), stability, and compatibility with packaging to adhere to the safety standards mandated for cosmetic products. For this study, 24 participants from Poland (20 women and 4 men) aged 24 to 58 years were recruited. All participants confirmed a lack of past allergic reactions to honey or any other ingredient in the formulation. They were instructed not to use any other hand moisturizers at least one h before the tests. The participants were divided into two groups: Group A received a blinded pair of 0% and 10% (*w/w*) honey hand cream, while Group B received a blinded pair of 5% and 15% (*w/w*) honey hand cream (as shown in Figure 11). The age difference between the two groups was confirmed: $t(11) = 0.549$; $p = 0.59$, with means for Group A and Group B of 40.0 and 42.4, respectively. Sex distribution included 1 man and 11 women in Group A and 3 men and 9 women in Group B. Volunteers were directed to apply the cosmetics twice daily, respectively, on the left and right back of their hands. Throughout this study, using other hydrating hand care products was prohibited to eliminate confounding variables. The experiment encompassed three skin assessment time points: before cosmetics application, 15 min after the first application, and finally after four weeks of regular use. Before the apparatus examination, volunteers waited for 15 min to allow their skin to adjust to room conditions (40–45% humidity, 22–24 °C). Before the 4-week assessment, participants refrained from using the tested cosmetics for 1 h following the skin condition evaluation to mitigate the influence of short-term effects. Questionnaires were completed after four weeks of cosmetic use and following all the tests. This study was completed by 23 participants, with 12 in Group A and 11 in Group B.

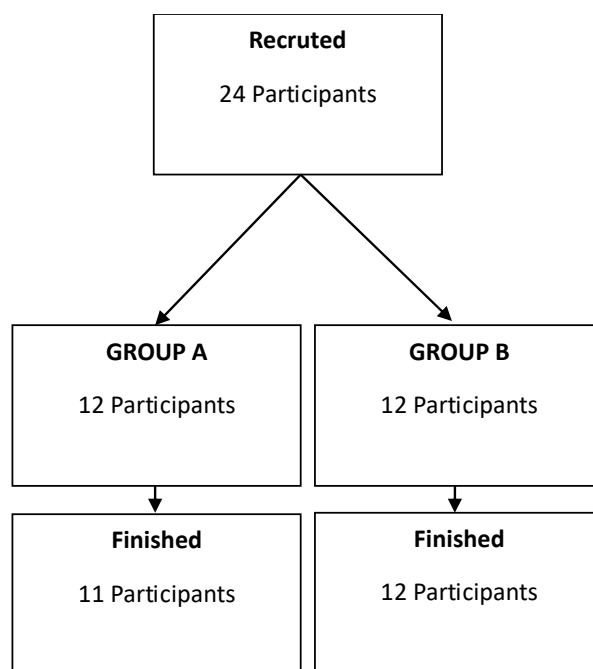


Figure 11. Division and progress of the present study. Hand creams with 0% and 10% (*w/w*) honey content were assigned to Group A, whereas hand creams with 5% and 15% (*w/w*) honey content were assigned to Group B.

4.3. Quantitative Methods

The participant questionnaire included rating questions regarding usage and sensory evaluation. The assessment utilized a scale ranging from 0 (very unfavorable) to 5 (very favorable), focusing on parameters like spreadability, absorption rate, and the sensation of a hydrating film on the skin. Formula stickiness was evaluated on a scale from 0 (no stickiness) to 10 (very sticky, honey-like residue). The purpose of this rating scale was to ascertain if the honey content influenced the sensory aspects of the cream, especially stickiness.

A non-invasive assessment of skin conditions was conducted by using the Courage&Khazaka Electronic GmbH (Köln, Germany) apparatus, equipped with probes to measure various skin parameters. These included moisture level, transepidermal water loss, elasticity, smoothness, wrinkle area, and depth. The measurement procedures were aligned with the apparatus manuals.

To measure skin hydration, the Corneometer CM 825 probe, which employs the capacitive method, was utilized. The hydration level of the skin is expressed in arbitrary units (a.u.) by measuring the dielectric constant of the stratum corneum. Higher a.u. values correspond to greater skin hydration. The probe was positioned on the middle back of the hands.

The Tewameter TM 300 probe assessed skin barrier function, specifically the parameter of transepidermal water loss expressed in $\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$. This cylindrical probe features two pairs of sensors to measure relative humidity above the stratum corneum. The parameter is calculated using Fick's law of diffusion and the gradient of water density between the sensor pairs. The probe was placed on the middle back of the hand, and the average value was obtained after 20 s of sensor temperature adaptation. A lower parameter value indicates better skin barrier function.

The Cutometer dual MPA 580 probe measured skin elasticity. Employing a vacuum, the probe gently pulls adjacent skin. The degree of skin deformation and relaxation is monitored in real time, generating a traceable diagram. The R2 parameter, representing overall elasticity, was used in the statistical analysis. It ranges from 0 to 100%, with higher values indicating more elastic skin. The probe's settings included a 2-s vacuum on-time, 2-s

off-time, and a pressure of 450 mbar. The probe was positioned on the back of the hands between the thumb and forefinger.

The Visioscan VC 98 USB probe evaluated skin smoothness. This high-resolution camera with a UVA lamp captured images that were interpreted using grayscale distribution to calculate skin surface smoothness. Placed on the middle back of the hands, the probe's SEsm (smoothness) parameter was employed in statistical analysis. SEsm is determined by the diversity of gray tones in the histogram; lower SEsm values indicate smoother skin surfaces.

Wrinkle surface area and depth were measured using the Visioline VL 650 – Quantri-dies apparatus. This method involves preparing a skin replica, obtained from the middle back of the hands, and placing it in the Visioline device. An illuminated light at a 35° angle and a high-resolution camera created an image, measuring and calculating the variations in skin irregularities. The mean wrinkle depth and the percentage of wrinkle area were parameters used in the statistical analysis.

4.4. Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out to ascertain the significance of variances between groups and to elucidate the impact of honey content percentage on skin parameters. To this end, the analysis involved dependent Student *t*-tests and repeated-measures analysis of variance (ANOVA) with post hoc Bonferroni correction. To determine the differences between groups, a post hoc analysis with Bonferroni correction was performed. Additionally, dependent Student *t*-tests were employed to compare the means of the paired groups. Separate Student *t*-tests were conducted for each group to contrast the measured skin parameters between them. The baseline parameters for each skin measuring test and honey cream group were checked to determine if the differences were not statistically significant.

Additionally, the analysis incorporated an analysis of variance (ANOVA) to assess the influence of honey content on each skin parameter across multiple groups. The ANOVA methodology facilitated the concurrent comparison of average values across the groups, enabling the identification of any potential differences in outcomes between them. All statistical analyses were executed using IBM SPSS, version 28.0.1, with the significance level set at $p < 0.05$.

5. Conclusions

Honey, as a natural ingredient, offers numerous advantages, including biocompatibility, a relatively low cost, consumer popularity, and its status as a renewable resource, which aligns with the principles of sustainable development and beekeeping culture. However, it also comes with certain technological challenges, such as its thermolability, tendency to crystallize, and low sticky point temperature, which can result in a sticky sensation after product application. These challenges can be overcome through careful formulation processes and production technology planning.

Honey holds significant market potential, although its effectiveness, as demonstrated through instrumental methods data, remains somewhat limited. Our research sheds light on the impact of honey-infused hand creams on the skin, considering varying honey content levels and both short-term and long-term use. Our study affirmed the time and percentage-dependent moisturizing effect of honey creams on the skin, which was anticipated given prior scientific findings and the theoretical concept of honey's humectant mode of action.

The promising results of our study include the anti-wrinkle and skin-smoothing effects of honey creams across all the tested percentage variations ($\geq 5\%$ *w/w*). The unexpectedly substantial improvements of 18.25% to 21.29% in wrinkle area and 10.5% to 11.7% in mean wrinkle depth reduction after four weeks of regular cream use position honey as a potentially significant rejuvenating agent, comparable to well-established substances like retinol or ascorbic acid.

However, our research revealed an unexpected finding in the TEWL parameter readings with the 15% honey cream, which improved the skin's barrier function less favorably

compared to the 5% and 10% honey creams. This could suggest that honey concentrations of 5–10% *w/w* might be more effective for enhancing the skin's barrier function, while a 15% concentration could be optimal for providing better moisturization.

It is important to acknowledge potential limitations in our research, such as the small sample sizes in the statistical analysis or volunteers not fully adhering to the experiment's requirements. Additionally, daily habits that could influence the outcomes, such as the number of daily hand washes, occupation, and the quality of hand care before the test, were not taken into account.

To conclude, further research and data collection on the use of honey in skincare are recommended. The unique properties of honey and its diverse impact on the skin warrant continuous exploration, which can lead to innovative cosmetic formulations and skincare products, as well as a better understanding of the mechanisms and effects of its action on the skin.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ph17121709/s1>, Supplementary S1. Certificate of analysis of honey.

Author Contributions: Conceptualization, G.S. and I.N.; methodology, G.S.; software, G.S.; validation, G.S.; formal analysis, G.S.; investigation, G.S.; resources, G.S. and I.N.; data curation, G.S.; writing—original draft preparation, G.S.; writing—review and editing, G.S. and I.N.; visualization, G.S.; supervision, I.N.; project administration, I.N.; funding acquisition, I.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of the Medical University Karola Marcinkowskiego in Poznań (resolution no 24/23, 12 January 2023).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

Data Availability Statement: Data is contained within the article and Supplementary Materials.

Conflicts of Interest: Author G.S. was employed by Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Farmapol Sp. z o. o. I.N. declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as potential conflicts of interest.

References

1. Future Market Insights Inc. Available online: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/natural-cosmetics-market> (accessed on 11 November 2023).
2. Mahesh, S.K.; Fathima, J.; Veena, V.G. Cosmetic Potential of Natural Products: Industrial Applications. In *Natural Bio-Active Compounds: Volume 2: Chemistry, Pharmacology and Health Care Practices*; Swamy, M.K., Akhtar, M.S., Eds.; Springer: Singapore, 2019; pp. 215–250.
3. Żak, N.; Przybyłowski, P. Evaluation of marketing factors impact on consumer perception of cosmetics with honey. *Sj-Econ. Sci. J.* **2017**, *24*, 308–317. [\[CrossRef\]](#)
4. Alvarez-Suarez, J.M.; Tulipani, S.; Romandini, S.; Bertoli, E.; Battino, M. Contribution of honey in nutrition and human health: A review. *Mediterr. J. Nutr. Metab.* **2010**, *3*, 15–23. [\[CrossRef\]](#)
5. El Sohaimy, S.A.; Masry, S.H.D.; Shehata, M.G. Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Ann. Agric. Sci.* **2015**, *60*, 279–287. [\[CrossRef\]](#)
6. Draelos, Z.D. The science behind skin care: Moisturizers. *J. Cosmet. Dermatol.* **2018**, *17*, 138–144. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Umesh Hebbar, H.; Rastogi, N.K.; Subramanian, R. Properties of dried and intermediate moisture honey products: A review. *Int. J. Food Prop.* **2008**, *11*, 804–819. [\[CrossRef\]](#)
8. Jaya, S.; Das, H. Glass transition and sticky point temperatures and stability/mobility diagram of fruit powders. *Food Bioprocess Technol.* **2009**, *2*, 89–95. [\[CrossRef\]](#)
9. Cavdan, M.; Drewing, K. To Touch or Not to Touch: The Linkage Between Viscosity and Unpleasantness. Eurohaptics.org. Available online: <https://eurohaptics.org/ehc2024/wp-content/uploads/sites/5/2024/06/1020-doc.pdf> (accessed on 5 June 2024).
10. Burlando, B.; Cornara, L. Honey in dermatology and skin care: A review. *J. Cosmet. Dermatol.* **2013**, *12*, 306–313. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Pavlačková, J.; Egner, P.; Slavík, R.; Mokrejš, P.; Gál, R. Hydration and barrier potential of cosmetic matrices with bee products. *Molecules* **2020**, *25*, 2510. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

12. Isla, M.; Cordero, A.; Diaz, L.; Perez-Perez, M.E.; Vit, P. Cosmetic properties of honey. 1. Antioxidant activity. In *Stingless Bees Process Honey Pollen Cerumen Pots*; Universidad de los Andes: Mérida, Venezuela, 2013; pp. 1–8.
13. Kurek-Górecka, A.; Górecki, M.; Rzepecka-Stojko, A.; Balwierz, R.; Stojko, J. Bee products in dermatology and skin care. *Molecules* **2020**, *25*, 556. [\[CrossRef\]](#)
14. Molan, P.; Betts, J.A. Clinical usage of honey as a wound dressing: An update. *J. Wound Care* **2004**, *13*, 353–356. [\[CrossRef\]](#)
15. Girsang, H.P.P.; Handoko, E.; Ginting, C.N.; Ginting, S.F.; Ikhtari, R. Potential Effect of Black Cumin Honey on Skin Wrinkles, Pores, Moisture, and Sebum. *Eur. J. App. Sci.* **2022**, *10*, 154–162.
16. Kowalczyk, I.; Jeżewska-Zychowicz, M.; Trafialek, J. Conditions of honey consumption in selected regions of Poland. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* **2017**, *16*, 101–112.
17. Kowalczyk, I.; Gębski, J.; Stangierska, D.; Szymańska, A. Determinants of honey and other bee products use for culinary, cosmetic, and medical purposes. *Nutrients* **2023**, *15*, 737. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Ficheux, A.S.; Wesolek, N.; Chevillotte, G.; Roudot, A.C. Consumption of cosmetic products by the French population. First part: Frequency data. *Food Chem. Toxicol.* **2015**, *78*, 159–169. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Vieira, G.S.; Lavarde, M.; Fréville, V.; Rocha-Filho, P.A.; Pensé-Lhéritier, A. Combining sensory and texturometer parameters to characterize different types of cosmetic ingredients. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2020**, *42*, 156–166. [\[CrossRef\]](#)
20. Jarzabek-Perz, S.; Mucha, P.; Rotsztein, H. Corneometric evaluation of skin moisture after application of 10% and 30% gluconolactone. *Ski. Res. Technol.* **2021**, *27*, 925–930. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Spada, F.; Barnes, T.M.; Greive, K.A. Skin hydration is significantly increased by a cream formulated to mimic the skin's own natural moisturizing systems. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **2018**, *11*, 491–497. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Tabri, F.; Yuniati, L. A randomized, double-blind clinical trial comparing the effects of 1% ceramide, 10% lanolin and 10% urea cream in improving skin barrier function of children with mild atopic dermatitis. *Int. J. Sci. Health Res.* **2018**, *3*, 152–157.
23. Lodén, M. Skin Barrier Function: Effects of Moisturizers. *All. Cosm. Toil. Mag.* **2001**, *116*, 31–40.
24. Kováčik, A.; Kopečná, M.; Vávrová, K. Permeation enhancers in transdermal drug delivery: Benefits and limitations. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2020**, *17*, 145–155. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Brown, T.M.; Krishnamurthy, K. Histology, Dermis. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Petersburg, FL, USA, 2022. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/> (accessed on 12 November 2023).
26. Saraf, S. Topical delivery of Curcuma longa extract loaded nanosized ethosomes to combat facial wrinkles. *J. Pharm. Drug Deliv. Res.* **2014**, *3*, 2–8.
27. Naeimifar, A.; Nasrollahi, S.A.; Samadi, A.; Talari, R.; Ale-nabi, S.S.; Hossini, M.A.; Firooz, A. Preparation and evaluation of anti-wrinkle cream containing saffron extract and avocado oil. *J. Cosmet. Dermatol.* **2020**, *19*, 2366–2373. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Pena Ferreira, M.R.; Costa, P.C.; Bahia, F.M. Efficacy of anti-wrinkle products in skin surface appearance: A comparative study using non-invasive methods. *Ski. Res. Technol.* **2010**, *16*, 444–449. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Farooq, U.; Mahmood, T.; Shahzad, Y.; Yousaf, A.M.; Akhtar, N. Comparative efficacy of two anti-aging products containing retinyl palmitate in healthy human volunteers. *J. Cosmet. Dermatol.* **2018**, *17*, 454–460. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Han, S.M.; Hong, I.P.; Woo, S.O.; Chun, S.N.; Park, K.K.; Nicholls, Y.M.; Pak, S.C. The beneficial effects of honeybee-venom serum on facial wrinkles in humans. *Clin. Interv. Aging* **2015**, *10*, 1587–1592. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Poznań, 07.01.2025r.

Mgr farm. Grzegorz Suwiński
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

Niniejszym oświadczam, że w poniższym artykule:

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Tradycyjne i nowatorskie technologie systemów dostarczania leku dla substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie: studium przypadku na przykładzie propolisu”, Przem. Chem., 2021, 100(6), 600-605. IF=0,3; punkty MNiSW=70

mój wkład w pracę obejmował: współudział w opracowaniu koncepcji badawczej i doborze metod badawczych, dokonanie przeglądu baz danych w kierunku kwalifikacji prac badawczych do analizy, dokonanie przeglądu prac badawczych i przygotowanie danych do analizy, analiza danych i ich interpretacja, przygotowanie koncepcji manuskryptu, jego treści i wizualizacji, współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.



Mgr farm. Grzegorz Suwiński


Zakładu Chemii Stosowanej
prof. dr hab. Izabela Nowak

Poznań, 07.01.2025r.

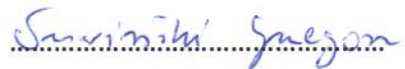
Mgr farm. Grzegorz Suwiński
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

Niniejszym oświadczam, że w poniższym patencie:

Grzegorz Suwiński, Patent nr 241552 "*Kompozycja organożelu zawierająca krzemionkę koloidalną oraz co najmniej jeden rozpuszczalnik organiczny*", WUP UPRP, 2022, 43, 5.

mój wkład w pracę obejmował: opracowanie technologii wytwarzania organożelu krzemionkowego, ram recepturowych technologii, metod badawczych, przygotowanie przykładów wykonania, przeprowadzenie badań na próbkach, analizę i interpretację danych, przygotowanie koncepcji opisu patentowego, wizualizacji, odpowiedzi do Urzędu Patentowego.



Mgr farm. Grzegorz Suwiński

Kierownik
Zakładu Chemii Stosowanej

prof. dr hab. Izabela Nowak

Poznań, 07.01.2025r.

Mgr farm. Grzegorz Suwiński
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

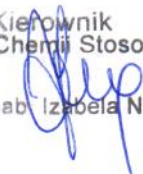
Niniejszym oświadczam, że w poniższym artykule:

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Stability and Rheological Properties of the Novel Silica-Based Organogel—A Drug Carrier with High Solubilization Potential”, Materials, 2025, 18, 266.
IF=3,1; punkty MNiSW=140

mój wkład w pracę obejmował: współudział w opracowaniu koncepcji badawczej i doborze metod badawczych, opracowanie technologii wytwarzania mas kosmetycznych, przygotowanie próbek do badań, przeprowadzenie badań stabilności wahadłowej, długoterminowej, termicznej, synerезy, reologicznych, nadzór nad badaniami dermatologicznymi, przeciwdrobnoustrojowymi, uwalniania, obrazowania mikroskopowego, dystrybucji wielkości cząstek, przygotowanie i analiza danych, interpretacja danych, przygotowanie koncepcji manuskryptu, jego treści i wizualizacji, współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.



Mgr farm. Grzegorz Suwiński

Kierownik
Zakładu Chemii Stosowanej

prof. dr hab. Izabela Nowak

Poznań, 07.01.2025r.

Mgr farm. Grzegorz Suwiński
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

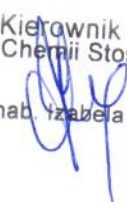
Niniejszym oświadczam, że w poniższym artykule:

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Innovative Honey-Based Product and Its Beneficial Effects Measured by Modern Biophysical and Imaging Skin Techniques”, Pharmaceuticals, 2024, 17, 1709. IF=4,3; punkty MNiSW=100

mój wkład w pracę obejmował: współudział w opracowaniu koncepcji badawczej i doborze metod badawczych, opracowanie technologii wytwarzania mas kosmetycznych, przygotowanie próbek do badań, zapewnienie zgodności prawnej próbek kosmetycznych z wymogami bezpieczeństwa i przygotowanie wniosku do Komisji Bioetycznej, przeprowadzenie badań aparaturowych z udziałem ochotników (na podstawie Uchwały 24/23 Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z dnia 12.01.2023r.), przygotowanie danych i oprogramowania IBM SPSS do analizy statystycznej, przeprowadzenie analizy statystycznej, interpretacja danych, przygotowanie koncepcji manuskryptu, jego treści i wizualizacji, współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.



Mgr farm. Grzegorz Suwiński

Kierownik
Zakładu Chemii Stosowanej

prof. dr hab. Izabela Nowak

Prof. dr hab. Izabela Nowak
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

Poznań, 7.01.2025

OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

Niniejszym oświadczam, że w poniższym artykule:

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „*Tradycyjne i nowatorskie technologie systemów dostarczania leku dla substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie: studium przypadku na przykładzie propolisu*”, Przem. Chem., 2021, 100(6), 600-605. IF=0,3; punkty MNiSW=70

Byłam bezpośrednim opiekunem naukowym i promotorem pracy doktorskiej mgr. farm. Grzegorza Suwińskiego, a mój własny udział obejmował:

- nadzór naukowy;
- pozyskiwanie finansowania;
- współudział w opracowaniu koncepcji badawczej;
- współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje oraz korespondencja z edytorem i recenzentami.

Prof. dr hab. Izabela Nowak

Prof. dr hab. Izabela Nowak
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

Poznań, 7.01.2025

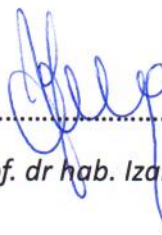
OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

Niniejszym oświadczam, że w poniższym artykule:

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Stability and Rheological Properties of the Novel Silica-Based Organogel—A Drug Carrier with High Solubilization Potential”, *Materials*, 2025, 18, 266. IF=3,1; punkty MNiSW=140

Byłam bezpośrednim opiekunem naukowym i promotorem pracy doktorskiej mgr. farm. Grzegorza Suwińskiego, a mój własny udział obejmował:

- nadzór naukowy;
- pozyskiwanie finansowania;
- współudział w opracowaniu koncepcji badawczej;
- współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje oraz korespondencja z edytorem i recenzentami.



Prof. dr hab. Izabela Nowak

Prof. dr hab. Izabela Nowak
Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytetu Poznańskiego 8
61-614 Poznań

Poznań, 7.01.2025

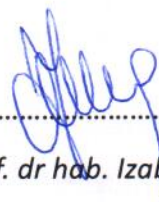
OŚWIADCZENIE AUTORA PRACY

Niniejszym oświadczam, że w poniższym artykule:

Grzegorz Suwiński, Izabela Nowak, „Innovative Honey-Based Product and Its Beneficial Effects Measured by Modern Biophysical and Imaging Skin Techniques”, Pharmaceuticals, 2024, 17, 1709. IF=4,3; punkty MNiSW=100

Byłam bezpośrednim opiekunem naukowym i promotorem pracy doktorskiej mgr. farm. Grzegorza Suwińskiego, a mój własny udział obejmował:

- nadzór naukowy;
- pozyskiwanie finansowania;
- współudział w opracowaniu koncepcji badawczej;
- współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje oraz korespondencja z edytorem i recenzentami.



Prof. dr hab. Izabela Nowak