

Małgorzata Kucia

Elżbieta Sikora

Wpływ bazy kosmetycznej na uwalnianie kwasu usninowego

Streszczenie

Kwas usninowy, należący do kwasów porostowych, odznacza się szerokim spektrum aktywności biologicznej, m.in. działa przeciwdrobnoustrojowo, przeciwzapalnie i promieniochronnie. Znajduje zastosowanie jako składnik leków roślinnych i produktów kosmetycznych. W pracy badano wpływ bazy kosmetycznej (typu emulsji i stopnia rozdrobnienia fazy wewnętrznej) na kinetykę uwalniania kwasu usninowego. Otrzymano dwa typy emulsji – O/W i W/O, o różnym stopniu rozdrobnienia fazy zdyspergowanej, zawierające 0,05% w/w kwasu usninowego. Dla otrzymanych produktów przeprowadzono badania właściwości fizykochemicznych (typ emulsji, stabilność, lepkość, pH, rozmiar kropli fazy zdyspergowanej). Badanie uwalniania kwasu usninowego przeprowadzono w układzie termostatowanych komór dyfuzyjnych, stosując błonę dializacyjną z regenerowanej celulozy. Jako roztwór akceptorowy zastosowano mieszaninę alkoholu etylowego i buforu fosforanowego (PBS) o pH = 7,4 w stosunku EtOH/PBS = 10/90 v/v. Stężenie uwolnionego kwasu analizowano za pomocą spektrofotometru UV-Vis. Uzyskane wyniki wykazały, że emulsje typu O/W w porównaniu z emulsjami typu W/O stanowią dużo skuteczniejszą formę podawania kwasu usninowego do skóry. Po 24 godz. z emulsji typu O/W przeniknęło do roztworu akceptorowego ok. 45% stężenia początkowego kwasu, podczas gdy z emulsji typu W/O ok. 18%.

Słowa kluczowe: kwas usninowy, baza kosmetyczna, proces przenikania, uwalnianie.

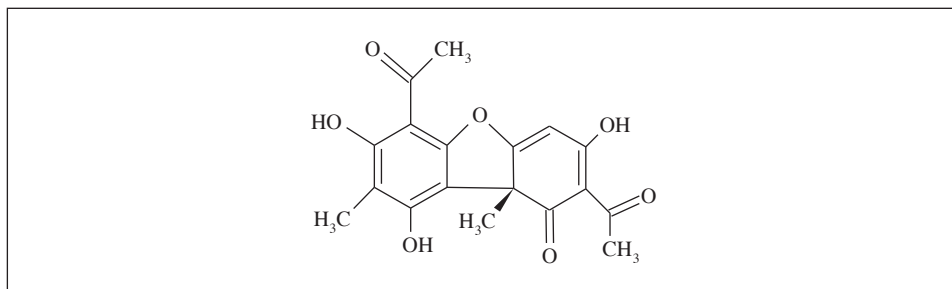
Klasyfikacja JEL: L66.

Małgorzata Kucia, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Wydział Towaroznawstwa i Zarządzania Produktem, Katedra Chemii Ogólnej, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków, e-mail: malgorzata.kucia@uek.krakow.pl

Elżbieta Sikora, Politechnika Krakowska, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Instytut Chemii i Technologii Organicznej, ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków, e-mail: esikora@pk.edu.pl

1. Wprowadzenie

Kwas usninowy (rys. 1) jest pochodną dibenzofuranu. W przyrodzie jego źródłem są porosty z rodzin: *Cladonia*, *Usnea*, *Lecanora*, *Ramalina*, *Evernia*, *Parmelia*, *Alectoria* i *Flavocetrari* [Caviglia i in. 2001, Bjerke i in. 2005, Barton, Deflorin i Edwards 1956].



Rys. 1. Kwas (+)-usninowy

Źródło: [Kristmundsdóttir i in. 2005].

Kwas (+)-usninowy jest substancją charakteryzującą się szerokim spektrum aktywności biologicznej, wykazuje działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne i promieniochronne [Caviglia i in. 2001, Ingólfssdóttir 2002, Honda i in. 2010, Grumezescu i in. 2011, König i Wright 1999, Perry i in. 1999, Kupchan i Kopperman 1975]. Jest aktywny wobec szczepów bakterii zarówno gram-dodatnich, jak i gram-ujemnych [Ingólfssdóttir 2002], w tym bakterii z rodzajów *Streptococcus sp.* (paciorkowce), *Staphylococcus sp.* (gronkowce), *Pneumococcus sp.* (dwoinka zapalenia płuc), *Mycobacterium tuberculosis* (prątek gruźlicy) [Grumezescu i in. 2011] i *Streptococcus mutans* (paciorkowiec odpowiedzialny m.in. za rozwój próchnicy) [Caviglia i in. 2001]. Wykazuje także aktywność przeciwgrzybiczą [Honda i in. 2010, König i Wright 1999, Perry i in. 1999] oraz przeciwpierwotniakową [Verotta i in 2007, Fournet i in. 1997]. Właściwości przeciwwirusowe kwasu usninowego nie są dokładnie zbadane, jednak z analiz przedstawionych w literaturze przedmiotu wynika, że związek ten wykazuje nieznaczną aktywność przeciwko wirusom HSV (*Herpes Simple* typu 1) i PSV1 (wirus polio typu 1) [König i Wright 1999, Studzińska-Sroka i Bylka 2010, Scirpa i in. 1999, Santos i in. 2006]. Coraz większe zainteresowanie naukowców wzbudza potencjalne działanie przeciwnowotworowe i antymutagenne niektórych porostów zawierających kwas usninowy [Kupchan i Kopperman 1975, Song i in. 2012]. Ponadto związek ten wykazuje działanie antyproliferacyjne wobec keratynocytów, co ma duże znaczenie w chorobach przebiegających z nadmierną keratynizacją

naskórka [Zhong 2005]. Dzięki swoim właściwościom kwas usninowy znalazł zastosowanie jako składnik aktywny w preparatach kosmetycznych i farmaceutycznych. Stosowany jest jako składnik aktywny w kosmetykach dezodorujących, przeciwtrądzikowych oraz przeciwłupieżowych [Molski 2009, Moreira i in. 2013], a także w kosmetykach do higieny jamy ustnej, takich jak pasty do zębów czy płyny do płukania ust [Caviglia i in. 2001, Moreira i in. 2013, *Safety Survey...* 2010]. Znalazł również zastosowanie jako składnik produktów farmaceutycznych stosowanych w leczeniu łupieżu lub łuszczycy, a także w leczeniu oparzeń, ropni oraz malarii [Studzińska-Sroka i Bylka 2010, *Safety Survey...* 2010].

Efektywność działania preparatów kosmetycznych i farmaceutycznych stosowanych na skórę zależy od wielu czynników, w tym właściwości substancji przenikającej, rodzaju bazy kosmetyku i czynników biologicznych. Wśród właściwości substancji przenikającej istotne znaczenie mają wielkość i kształt cząsteczki, lipofilowość, rozpuszczalność, stopień dysocjacji, a także możliwość tworzenia wiązań chemicznych z komponentami struktury skóry. Kolejnym czynnikiem, który odgrywa znaczącą rolę, jest baza kosmetyku, tj. typ emulsji, obecność promotorów przenikania czy stopień rozdrobnienia fazy zdyspergowanej. Natomiast wśród czynników biologicznych znaczenie mają: grubość skóry, przepływ krwi, metabolizm, uwodnienie, obszar skóry, wiek, ale też choroby i stany zapalne [Molski 2009, 2013, Kaczmarzyk 2013, Arct, Majewski i Pytkowska 2008, Arct i Chełkowska 2001, Starzyk i Arct 2003, Jaworska, Sikora i Ogonowski 2011].

Celem pracy było zbadanie, w jakim stopniu na przenikanie kwasu usninowego, który jest substancją o charakterze lipofilowym, będzie miał wpływ typ zastosowanej jako baza emulsji, a także stopień rozdrobnienia fazy wewnętrznej. Kwestia ta wciąż jest przedmiotem dyskusji. Z wielu analiz przedstawionych w literaturze przedmiotu wynika, że wielkość kropli fazy zdyspergowanej w istotny sposób wpływa na penetrację składników aktywnych [Otto, Du Plessis i Wiechers 2009, Paolino i in. 2002, Sonneville-Aubrun, Simonnet i L'Alloret 2004, Frelichowska i in. 2009, Kotyla i in. 2008], jednak z wcześniejszych badań autorów [Sikora i in. 2015], jak i z badań P. Izquierdo i współautorów [2007] wynika, że stopień dyspersji fazy wewnętrznej nie wpływa na przenikanie substancji aktywnych.

2. Materiały i metody badań

2.1. Uwagi ogólne

Na podstawie opracowanych receptur (tabela 1) przygotowano emulsje (O/W i W/O) zawierające jako składnik aktywny kwas usninowy (Aldrich) o stężeniu 0,05%. Jako fazę olejową w emulsjach oraz jako olej odniesienia zastosowano triglicerydy krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (Crodamol GTCC –

Croda). W fazie wodnej emulsji jako składnik nawilżający zastosowano glicerynę (POCh S.A). Lepkość emulsji regulowano poprzez dodatek gumy ksantanowej (Regis), a w przypadku emulsji typu W/O dodatkowo poprzez dodatek wosku pszczelego (Pharma Cosmetics). Jako środek konserwujący zastosowano benzoosan sodu (Pharma Cosmetics). Emulsje stabilizowano, stosując w przypadku emulsji typu O/W Arlancel 2121 (Croda), a w przypadku emulsji typu W/O Isolan GI34 (Evonik).

Tabela 1. Skład ilościowy opracowanych receptur emulsji

Składnik	Nazwa INCI	Skład, % mas.	
		E ₁ (W/O)	E ₂ (O/W)
Arlancel 2121	Sorbitan Stearate and Sucrose Cocoate	–	5
Isolan GI 34	Polyglyceryl-4 Isostearate	4	–
Crodamol GTCC	Caprylic/Capric Triglyceride	17	17
Wosk biały	Cera alba	3	–
Kwas usninowy	(+)-Usnic acid 98%	0,05	0,05
Gliceryna bezwodna	Glycerin	3	3
Guma ksantanowa	Xantham gum	0,5	0,5
Benzoosan sodu	Benzoic acid	0,5	0,5
Woda	Aqua	do 100	do 100

Źródło: opracowanie własne.

Przygotowując emulsje E₁ (W/O) i E₂ (O/W) postępowano według standardowej procedury: połączone składniki, oddzielnie fazy olejowej i wodnej, podgrzano do temperatury 65°C w celu uzyskania klarownych cieczy. Kwas usninowy wprowadzano do fazy olejowej. Następnie obie fazy łączono na ciepło ($T = 65^{\circ}\text{C}$), wlewając fazę wewnętrzną do fazy ciągłej, całość mieszano z prędkością 600 obrotów na minutę (rpm), stosując mieszadło mechaniczne firmy IKA[®], przez 15 min. Po połączeniu faz mieszanie kontynuowano, chłodząc masę emulsyjną do temperatury $T = 25^{\circ}\text{C}$. W celu uzyskania produktów o większym stopniu zdyspergowania fazy wewnętrznej, E₃ (W/O) i E₄ (O/W), przygotowano próbki emulsji według powyżej opisanej procedury, które następnie poddano procesowi homogenizacji (czas homogenizacji $t = 2$ min, szybkość homogenizacji $v = 12\ 000$ rpm). W badaniach użyto homogenizatora firmy CAT Scientific. Wszystkie otrzymane emulsje poddano ocenie pod względem właściwości fizykochemicznych. Stabilność badanych produktów oceniano, stosując metodę wirówkową i test zmiennych temperatur. W pierwszym przypadku próbki emulsji umieszczone w wirówce

(wirówka firmy Hettich Zentrifugem) wirowano z szybkością 3000 rpm w czasie 30 min. Testy temperaturowe przeprowadzono metodą szoków termicznych, umieszczając próbki emulsji najpierw w temperaturze $T = 40^{\circ}\text{C}$, a następnie w $T = 4^{\circ}\text{C}$, w czasie 48 godz. Typ emulsji badano metodą rozcieńczeń oraz za pomocą pomiaru przewodnictwa elektrycznego (konduktometr firmy Mettler Toledo). Pomiar pH wykonano, stosując pH-metr firmy Mettler Toledo. Wielkość kropli fazy zdyspergowanej zmierzono za pomocą mikroskopu optycznego firmy Motic, z torem wizyjnym, sterowanego komputerowo (program Motic images Plus 2.0 ML). Na zarejestrowanych zdjęciach mikroskopowych przeprowadzono autokalkulację kropli i na tej podstawie wyliczono średnią średnicę kropli (średnica stanowiła wartość średnią z 900 do 1200 zliczeń). Do pomiaru lepkości sporządzonych emulsji użyto reometru rotacyjnego model R/S Plus firmy Brookfield, wyposażonego w układ pomiarowy typu stożek-płytką. Czystość mikrobiologiczną badanych preparatów sprawdzono, stosując testy Microcount Combi firmy Schülke. Badanie prowadzono według procedury polecanej przez producenta (http://www.schuelke.com/download/pdf/cint_lde-gb_microcount_combi_fol.pdf, data dostępu: 5.05.2016).

2.2. Badanie uwalniania kwasu usninowego

Badania kinetyki uwalniania kwasu usninowego z opracowanych formułacji: E_1 (W/O), E_2 (O/W), E_3 (W/O), E_4 (O/W) zostało przeprowadzone na układach modelowych, w systemie trzech termostatowanych komór dyfuzyjnych, w temperaturze 32°C przez okres 24 godz. Roztwór akceptora stanowiła mieszanina alkoholu etylowego i buforu fosforanowego (PBS) o $\text{pH} = 7,4$, w stosunku EtOH/PBS = 10/90 v/v. Do badań zastosowano membrany dializacyjne Spectra/Por Standard Regenerated Cellulose (RC) (MWCO 6-8). Jako próbkę odniesienia zastosowano 0,05-procentowy roztwór kwasu usninowego w Crodamol GTCC. Analizę jakościową i ilościową substancji aktywnej w roztworze akceptora przeprowadzono za pomocą spektrofotometru Nanocolor UV-VIS firmy Machery-Nagel. Stężenie kwasu usninowego w roztworze akceptorowym obliczono na podstawie wstępnie wyznaczonej krzywej kalibracji ($R^2 = 0,999$, gdzie R^2 – współczynnik determinacji liniowej), zgodnie z równaniem:

$$y = 93,826x + 0,172, \quad (1)$$

gdzie:

- y – absorbcja przy długości fali $\lambda = 291,5 \text{ nm}$,
- x – stężenie w mg/cm^3 .

3. Wyniki i dyskusja wyników

3.1. Charakterystyka badanych emulsji

W tabeli 2 przedstawiono wyniki pomiarów właściwości otrzymanych preparatów. Z zamieszczonych danych wynika, że opracowano stabilne emulsje zawierające jako składnik aktywny kwas usninowy. Zgodnie z założeniami, w zależności od rodzaju zastosowanego emulgatora uzyskano dwa różne typy emulsji – W/O i O/W. Zastosowanie dodatkowo procesu homogenizacji pozwoliło na uzyskanie emulsji o większym stopniu rozdrobnienia fazy wewnętrznej, o średnicach kropeł średnio mniejszych o ok. 3 μm od średnicy kropeł w emulsjach niehomogenizowanych. Ponadto na podstawie przedstawionych na fot. 1 i 2 przykładowych zdjęć mikroskopowych można zauważyć, że proces homogenizacji pozwolił na uzyskanie bardziej jednorodnych układów.

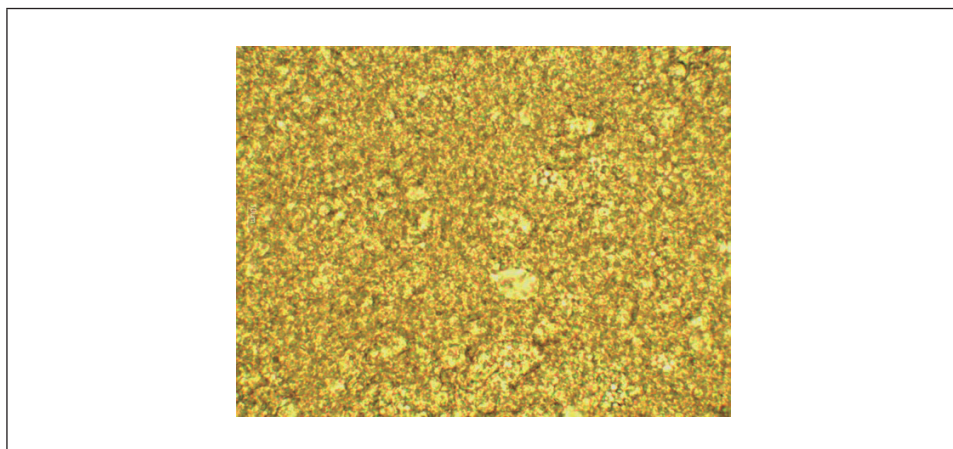
Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne sporządzonych emulsji

Emulsja	Stabilność		Typ emulsji		Średnia średnica kropeł fazy zdyspergowanej d , μm ($n = 900$)
	metoda wirówkowa	metoda szoków termicznych (temperatury 0°C i 40°C)	metoda rozcieńczeń	metoda konduktometryczna, $\mu\text{S/cm}$	
E ₁ (O/W)	+	+	O/W	1280	10,9 ($\pm 1,92$)
E ₂ (W/O)	+	+	W/O	0,079	9,5 ($\pm 1,64$)
E ₃ (O/W)	+	+	O/W	1280	7,4 ($\pm 0,65$)
E ₄ (W/O)	+	+	W/O	0,079	5,4 ($\pm 0,55$)

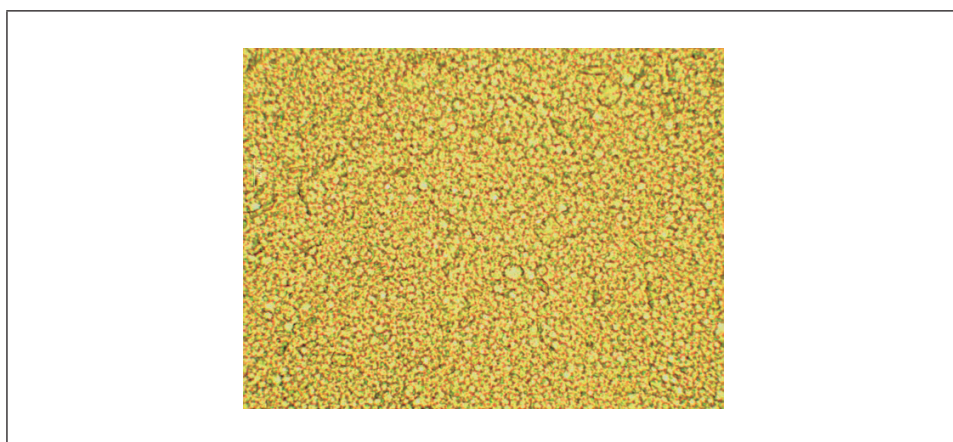
Objaśnienia: + emulsja stabilna, E₁ (O/W), E₂ (W/O) – emulsje niehomogenizowane, E₃ (O/W), E₄ (W/O) – emulsje homogenizowane.

Źródło: opracowanie własne.

Wszystkie otrzymane preparaty miały wartości pH odpowiadające fizjologicznemu pH skóry (5,9–6,1). Wyniki badań przeprowadzonych z użyciem testu Microcount Combi potwierdziły czystość mikrobiologiczną badanych preparatów. W żadnym przypadku, po odpowiednim okresie inkubacji, na pożywkach agarowych znajdujących się na płytkach pomiarowych nie obserwowano obecności grzybów i bakterii.

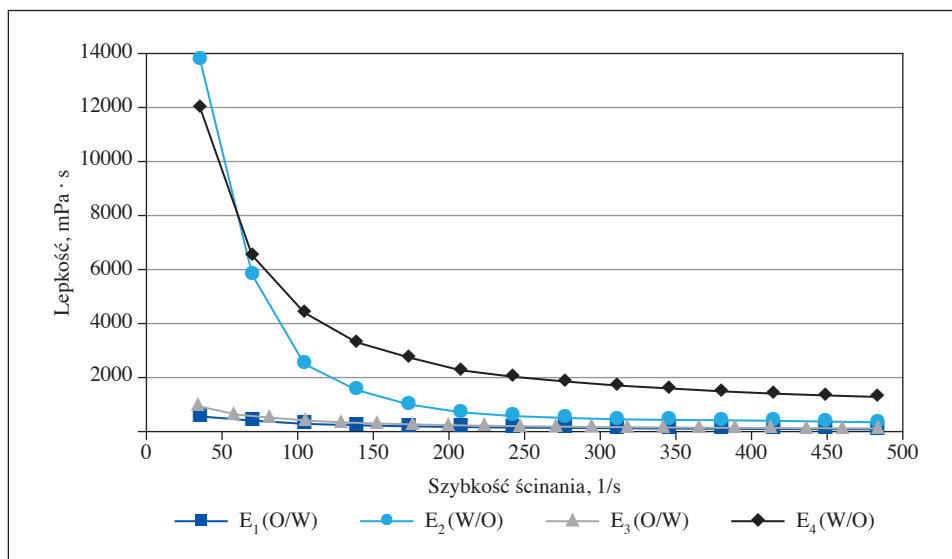


Fot. 1. Obraz mikroskopowy emulsji typu W/O przed homogenizacją – E₂(W/O)



Fot. 2. Obraz mikroskopowy emulsji typu W/O po homogenizacji – E₄(W/O)

Na rys. 2 przedstawiono krzywe lepkości badanych emulsji. Na podstawie zamieszczonych danych można stwierdzić, że otrzymane produkty należą do cieczy nienewtonowskich, pseudoplastycznych, rozrzedzanych ścinaniem oraz że proces homogenizacji powoduje wzrost lepkości preparatów w całym badanym zakresie szybkości ścinania, przy czym zmiana ta jest bardziej wyraźna w przypadku emulsji typu W/O.

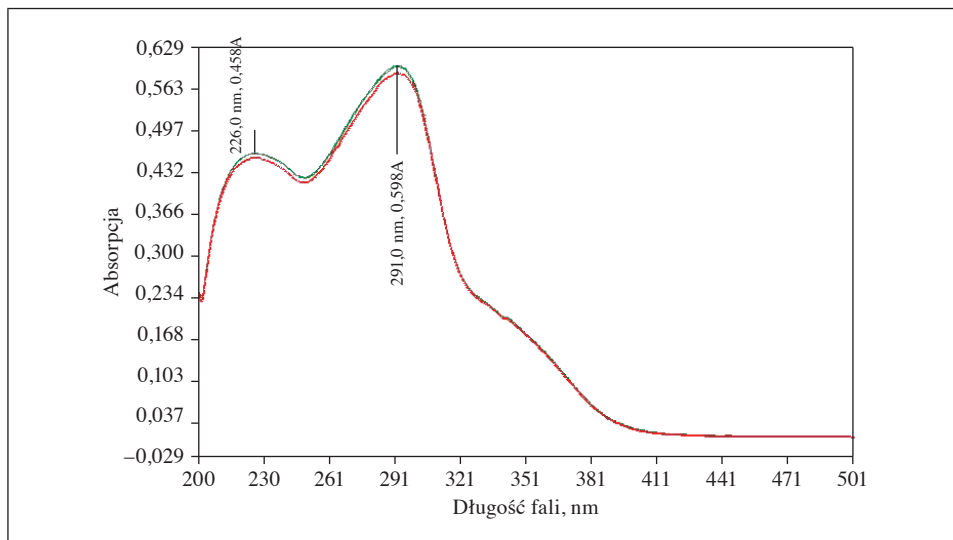


Rys. 2. Zależność lepkości dynamicznej od szybkości ścinania dla badanych emulsji
Źródło: opracowanie własne.

3.2. Uwalnianie kwasu usninowego

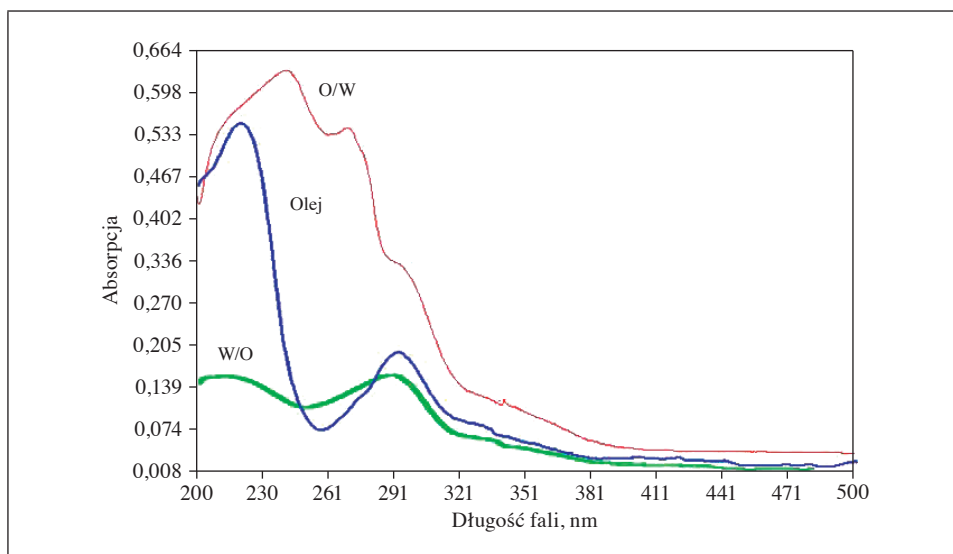
Na rys. 3 przedstawiono widmo absorpcyjne (UV-Vis) w roztworze akceptorowym (EtOH/PBS = 10/90 v/v). Na rysunku widoczne są dwa maksima absorpcyjne, przy długości fali $\lambda = 226$ nm oraz $\lambda = 291,5$ nm, które są charakterystyczne dla kwasu usninowego [Osterrothowa i Jehlicka 2009]. W przypadku analizy zawartości kwasu usninowego w próbkach roztworu akceptorowego, pobieranych w czasie testu uwalniania, do obliczenia stężenia kwasu odczytywano wartości absorbancji dla długości fali $\lambda = 291,5$ nm. Na rys. 4 przedstawiono przykładowe widma UV-vis dla kwasu usninowego w próbce roztworu akceptorowego pobranej do analizy po 19 godz. uwalniania.

Na rys. 5 przedstawiono krzywe uwalniania kwasu usninowego z emulsji olej w wodzie ($E_1(O/W)$ i $E_3(O/W)$) oraz woda w oleju ($E_2(W/O)$ i $E_4(W/O)$), a także z bazy olejowej (Crodamol GTCC). Na podstawie zamieszczonych danych można zauważyć, że forma fizykochemiczna receptury bazowej, w której umieszczona jest substancja czynna, wpływa na kinetykę uwalniania kwasu usninowego. Kwas usninowy lepiej (efektywniej) jest uwalniany z emulsji typu O/W, następnie z bazy olejowej, a najwolniej z emulsji typu W/O. Odpowiednio po 24 godz. z emulsji $E_1(O/W)$ przeniknęło do roztworu akceptorowego $11,7 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ kwasu (co stanowi 44,12% stężenia początkowego), w przypadku oleju $7,11 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ (22,92% stężenia początkowego), natomiast w przypadku emulsji $E_2(W/O)$ – $3,99 \mu\text{g}/\text{cm}^3$



Rys. 3. Widmo UV-vis dla kwasu usninowego w roztworze EtOH/PBS

Źródło: opracowanie własne.

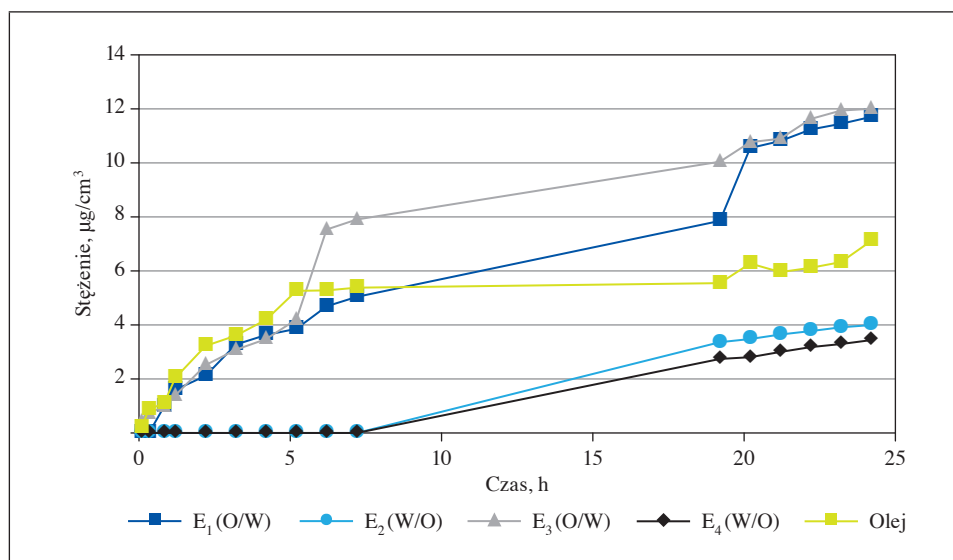


Objaśnienia: O/W – roztwór akceptorowy zawierający kwas usninowy uwalniany z emulsji O/W, Olej – roztwór akceptorowy zawierający kwas usninowy uwalniany z Crodamolu GTCC, W/O – roztwór akceptorowy zawierający kwas usninowy uwalniany z emulsji W/O

Rys. 4. Widmo próbki kwasu usninowego w roztworze akceptorowym (EtOH/PBS) pobranej po 19 godz. uwalniania

Źródło: opracowanie własne.

(co stanowi 18,16% stężenia początkowego). Zgodnie z wynikami wcześniejszych badań autorów, stopień rozdrobnienia fazy wewnętrznej nie wpłynął w znacznym stopniu na stężenie uwolnionego kwasu usninowego. Gdy porównamy ilość kwasu, która przenikała z emulsji O/W niehomogenizowanej E_1 (O/W) ($d = 10,7 \mu\text{m}$) i po homogenizacji E_3 (O/W) ($d = 7,4 \mu\text{m}$), odpowiednio 44,12% i 45,25% stężenia początkowego, a także E_2 (W/O) ($d = 9,57 \mu\text{m}$) i E_4 (W/O) ($d = 5,4 \mu\text{m}$) – 18,16% i 15,63% stężenia początkowego kwasu, widoczne jest, że stopień zdyspergowania fazy wewnętrznej emulsji nie wpływa na końcową ilość uwolnionego kwasu. W przypadku emulsji typu W/O oba profile uwalniania kwasu mają zbliżony przebieg w czasie całego pomiaru. W przypadku emulsji typu O/W w czasie pierwszych 5 godz. procesu oraz po 20 godz., profile uwalniania kwasu mają również zbliżony kształt.



Rys. 5. Wpływ formulacji bazowej na uwalnianie kwasu usninowego

Źródło: opracowanie własne.

Obserwowane zależności związane są prawdopodobnie w dużym stopniu z właściwościami kwas usninowego. Związek ten jest substancją o charakterze hydrofobowym i dlatego emulsje typu W/O stanowią dla niego mniej efektywny nośnik. Lipofilowy kwas usninowy zawarty w fazie ciągłej (olejowej) emulsji ze względu na swoją lipofilowość gorzej przenika do hydrofilowego roztworu akceptorowego. Z pewnością na efektywność uwalniania będzie również wpływać różnica w lepkościach formulacji; emulsje woda w oleju (E_2 (W/O) i E_4 (W/O)) w porównaniu z emulsjami olej w wodzie (E_1 (O/W) i E_3 (O/W)) charakteryzo-

wały się znacznie większą lepkością w całym zakresie szybkości ścinania (rys. 2), co zgodnie z prawem Stokesa-Einsteina wpływa na proces dyfuzji substancji aktywnej.

4. Podsumowanie

Kwas usninowy ze względu na właściwości antybakteryjne i przeciwzapalne może znaleźć zastosowanie w preparatach przeciwtrądzikowych, przeciwłupieżowych, a także w preparatach do pielęgnacji skóry atopowej czy w leczeniu innych dermatoz skórnych. Efektywność działania preparatów kosmetycznych i farmaceutycznych stosowanych na skórę zależy od wielu czynników, w tym właściwości substancji przenikającej czy rodzaju bazy kosmetyku. Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły, że stopień rozdrobnienia fazy rozproszonej w emulsjach w niewielkim stopniu wpływał na proces uwalniania kwasu usninowego. Bez względu na różnicę w rozmiarach kropeł fazy wewnętrznej uzyskano podobny profil uwalniania substancji czynnej zwłaszcza w końcowej fazie procesu. Natomiast wyraźnie na proces uwalniania kwasu usninowego wpływa typ emulsji, w której zawarty był związek. Różnice obserwowano już po pierwszych 5 godz. procesu uwalniania kwasu z badanych emulsji, natomiast po 24 godz. różnice w ilości kwasu uwolnionego do roztworu akceptorowego były bardzo wyraźne. Z emulsji typu O/W przeniknęło do roztworu akceptorowego ok. 45% zawartego w formulacji kwasu usninowego, podczas gdy z emulsji typu W/O ok. 18% stężenia początkowego. Podsumowując, emulsje typu O/W w porównaniu z emulsjami typu W/O stanowiły dużo skuteczniejszą formę podawania kwasu usninowego do skóry.

Literatura

- Arct J., Chełkowska M. [2001], *Czy możliwe jest przewidywanie zdolności wnikania w skórę aktywnych składników produktów kosmetycznych?*, „Wiadomości Polskiego Towarzystwa Kosmetologów”, nr 3/4.
- Arct J., Majewski S., Pytkowska K. [2008], *Kosmetyczne zastosowanie witamin A i E. Pielęgnacja i suplementacja*, Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia, Warszawa.
- Barton H.D.R., Deflorin A.M., Edwards O.E. [1956], *The Synthesis of Ursenic Acid*, „Journal of the Chemical Society (Resumed)”, <https://doi.org/10.1039/jr9560000530>.
- Bjerke J.W., Elvebakk A., Dominguez E., Dahlback A. [2005], *Seasonal Trends in Usnic Acid Concentrations of Arctic, Alpine and Patagonian Populations of the Lichen Flavocetraria nivalis*, „Phytochemistry”, vol. 66, nr 3, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.12.007>.

- Caviglia A.M., Nicora P., Giordani P., Brunialti G., Mondenesi P. [2001], *Oxidative Stress and Usnic Acid Content in Parmelia caperata and Parmelia soledians*, „Farmaco”, vol. 56, nr 5–7, [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01090-4](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01090-4).
- Fournet A., Ferreira M.E., Rojas de Arias A., Torres de Ortiz S., Inchausti A., Yaluff G., Quilhot W., Fernandez E., Hidalgo M.E. [1997], *Activity of Compounds Isolated from Chilean Lichens against Experimental Cutaneous Leishmaniasis*, „Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology & Endocrinology”, vol. 116, nr 1, [https://doi.org/10.1016/s0742-8413\(96\)00127-2](https://doi.org/10.1016/s0742-8413(96)00127-2).
- Frelichowska J., Bolzinger M.A., Pelletier J., Valour J.P., Chevalier Y. [2009], *Topical Delivery of Lipophilic Drugs From o/w Pickering Emulsions*, „International Journal of Pharmaceutics”, vol. 371, nr 1–2, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.12.017>.
- Grumezescu A.M., Saviuc C., Chifiriuc M.C., Hristu R., Mihaiescu D.E., Balaure P., Stanciu G., Lazar V. [2011], *Inhibitory Activity of Fe₃O₄/Oleic Acid/Usnic Acid – Core/Shell Nanofluid on S.aureus Biofil Development*, „IEE Transaction on NanoBio-science”, vol. 10, nr 4, <https://doi.org/10.1109/tnb.2011.2178263>.
- Honda N.K., Pavan F.R., Coelho R.G., de Andrade Leite S.R., Micheletti A.C., Lopes T.I.B., Misutsu M.Y., Beatriz A., Brum R.L., Leite C.Q.F. [2010], *Antimycobacterial Activity of Lichen Substances*, „Phytomedicine”, vol. 17, nr 5, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.018>.
- Ingólfssdóttir K. [2002], *Usnic Acid*, „Phytochemistry”, vol. 61, nr 7, [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(02\)00383-7](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(02)00383-7).
- Izquierdo P., Wiechers J.W., Escribano E., Garcia-Celma M.J., Tadros T.F., Esquena J., Dederen J.C., Solans C. [2007], *A Study on the Influence of Emulsion Droplet Size on the Skin Penetration of Tetracaine*, „Skin Pharmacology and Physiology”, vol. 20, nr 5, <https://doi.org/10.1159/000106076>.
- Jaworska M., Sikora E., Ogonowski J. [2011], *Czynniki wpływające na penetrację składników aktywnych przez skórę*, „Wiadomości Chemiczne”, nr 3–4.
- Kaczmarzyk D. [2013], *Kosmetyki wyszczuplające – skuteczne działanie czy marketing?*, „Kosmetologia Estetyczna”, nr 2(4).
- König G.M., Wright A.D. [1999], *1H and 13C-NMR and Biological Activity Investigations of Four Lichen-derived Compounds*, „Phytochemical Analysis”, vol. 10, nr 5, [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1565\(199909/10\)10:5<279::aid-pca464>3.3.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1565(199909/10)10:5<279::aid-pca464>3.3.co;2-v).
- Kotyła T., Kuo F., Moolchandani V., Wilson T., Nicolosi R. [2008], *Increased Bio-availability of a Transdermal Application of a Nano-sized Emulsion Preparation*, „International Journal of Pharmaceutics”, vol. 347, nr 1–2, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.06.045>.
- Kristmundsdóttir T., Jónsdóttir E., Ögmundsdóttir H., Ingólfssdóttir K. [2005], *Solubilization of Poorly Soluble Lichen Metabolites for Biological Testing on Cell Lines*, „European Journal of Pharmaceutical Sciences”, vol. 24, nr 5, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.01.011>.
- Kupchan S.M., Kopperman H.L. [1975], *l-Usnic Acid: Tumour Inhibition Isolated from Lichens*, „Experientia”, vol. 31, nr 6, <https://doi.org/10.1007/bf01944592>.
- Molski M. [2009], *Chemia piękna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Molski M. [2013], *Nowoczesne składniki kosmetyków*, Wydawnictwo Kosmoprof, Poznań.
- Moreira C., Oliveira A., Comar J., Peralta R., Bracht A. [2013], *Harmful Effects of Usnic Acid on Hepatic Metabolism*, „Chemico-Biological Interactions”, vol. 203, nr 2, <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.02.001>.

- Osterrothowa K., Jehlicka J. [2009], *Raman Spectroscopic Identification of Usnic Acid in Hydrothermal Minerals as a Potential Martian Analogue*, „Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy”, vol. 73, nr 3, <https://doi.org/10.1016/j.saa.2008.09.005>.
- Otto A., Du Plessis J., Wiechers J. W. [2009], *Formulation Effects of Topical Emulsions on Transdermal and Dermal Delivery*, „International Journal of Cosmetic Science”, vol. 31, nr 1, <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2008.00467.x>.
- Paolino D., Ventura C.A., Nistico S., Puglisi G., Fresta M. [2002], *Lecithin Microemulsions for the Topical Administration of Ketoprofen: Percutaneous Adsorption through Human Skin and in Vivo Human Skin Tolerability*, „International Journal of Pharmaceutics”, vol. 244, nr 1–2, [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(02\)00295-8](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(02)00295-8).
- Perry N.B., Benn M.H., Brennan N.J., Burgess E.J., Ellis G., Galloway D.J., Lorimer S.D., Tangney R.S. [1999], *Antimicrobial, Antiviral and Cytotoxic Activity of New Zealand Lichen*, „The Lichenologist”, vol. 31, nr 6, <https://doi.org/10.1006/lich.1999.0241>.
- Safety Survey of Active Ingredients Used in Cosmetics* [2010], Committee of Experts on Cosmetics Products, Council of Europe, Strasburg.
- Santos N. P. S., Nascimento S. C., Wanderley M. S. O., Pontes-Filho N. T., Silva J. F., Castro C. M. M. B., Pereira E. C., Silva N. H., Honda N. K., Santos-Magalhães N. S. [2006], *Nanoencapsulation of Usnic Acid: An Attempt to Improve Antitumor Activity and Reduce Hepatotoxicity*, „European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutica”, nr 2.
- Scirpa P., Scambia G., Masciullo V., Battaglia F., Foti E., Lopez R., Villa P., Malecore M., Mancuso S. [1999], *A Zinc Sulfate and Usnic Acid Preparation Used as Post-surgical Adjuvant Therapy in Genital Lesions by Human Papillomavirus*, „Minerva Ginecologica”, nr 51(6).
- Sikora E., Llinas M., Garcia-Celma M.J., Escribano E., Solans C. [2015], *Transdermal Delivery of Forskolin from Emulsions Differing in Droplet Size*, „Colloids and Surfaces B: Biointerfaces”, vol. 26, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.01.008>.
- Song Y., Dai F., Zhai D., Dong Y., Zhang J., Lu B., Luo J., Liu M., Yi Z. [2012], *Usnic Acid Inhibits Breast Tumor Angiogenesis and Growth by Suppressing VEGFR2-mediated AKT and ERK1/2 Signaling Pathways*, „Angiogenesis”, vol. 15, nr 3, <https://doi.org/10.1007/s10456-012-9270-4>.
- Sonneville-Aubrun O., Simonnet J.T., L'Alloret F. [2004], *Nanoemulsion: a New Vehicle for Skin Care Products*, „Advances in Colloid and Interface Science”, vol. 108–109, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.026>.
- Starzyk E., Arct J. [2003], *Liofilowość i absorpcja przez naskórkowa w kosmetykach*, „Wiadomości Polskiego Towarzystwa Kosmetologów”, nr 3.
- Studzińska-Sroka E., Bylka W. [2010], *Aktywność przeciwdrobnoustrojowa metabolitów wtórnych porostów*, „Postępy Fitoterapii”, nr 1.
- Verotta L., Appendino G., Bombardelli E., Brun R. [2007], *In Vitro Antimalarial Activity of Hyperforin, a Prenylated Acylphloroglucinol. A Structure-activity Study*, „Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters”, vol. 17, nr 6, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.12.100>.
- Zhong Y.C. [2005], *The Study on Skin Wound Healing Promoting Action of Sodium Usnic Acid*, „Journal of Chinese Medicinal Materials”, vol. 28(2).

The Influence of Cosmetics Bases on the Release of Usnic Acid

(Abstract)

Usnic acid is a type of lichen acid which exhibits a broad spectrum of biological activity, functioning as an antimicrobial, an anti-inflammatory and a UV-filter. It is used as an active ingredient in herbal medicines and cosmetics products. Its influence as a cosmetics base, including through properties such as emulsion type or degree of internal phase droplet size, on the release of usnic acid, was studied. Two types (O/W, W/O) of usnic acid – loaded, stable emulsions with varying degrees of dispersion of the dispersed phase were obtained. The concentration of usnic acid in all of the formulations studied was 0.05% w/w. The formulations' physicochemical properties, including stability, viscosity, pH and the droplet size of the dispersed phase, were evaluated. The kinesis of the usnic acid's release was performed in a thermostatic diffusion chamber, at a temperature of $T = 32^{\circ}\text{C}$, using dialysis membranes of regenerated cellulose. A mixture of phosphate buffer (PBS) and ethanol (EtOH), in 90/10, PBS/EtOH, volume ratio, was used as an acceptor solution. The concentration of released usnic acid was analyzed by UV-Vis spectrophotometer. The results showed that the O/W emulsions, as compared to W/O emulsions, are a much more effective means of administering usnic acid to the skin. After 24 hours, approx. 45% of the initial acid concentration penetrated into the acceptor solution from O/W emulsion, while from the W/O emulsion the released amount was about 18%.

Keywords: usnic acid, base cosmetic, process of diffusion, release.