

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL FARMACIE**

***Dezvoltarea și evaluarea unor produse topice
fotoprotectoare***
REZUMAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. LUPULIASA DUMITRU

Student doctorand:

DAN MIHAELA AFRODITA

2026

Cuprins

Lista lucrărilor științifice publicate

Lista abrevierilor utilizate

Introducere

I. PARTEA GENERALĂ

1. Fotoprotectoare topice – de la produse convenționale până la formulări inovatoare.....	15
1.1. Formularea produselor de protecție solară.....	16
1.2. Tipuri de produse fotoprotectoare.....	19
1.3. Sisteme nanoparticulate fotoprotectoare cu agenți minerali.....	23
1.3.1. Nanoformulări cu dioxid de titan.....	24
1.3.2. Nanoformulări cu oxid de zinc.....	25
2. Fotoprotectoare naturale.....	27
2.1. Mecanisme fotoprotectoare ale metaboliților secundari vegetali.....	28
2.2. Clasificarea metaboliților secundari cu rol fotoprotector.....	29
2.3. Studii clinice și preclinice asupra acțiunii fotoprotectoare.....	30

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	45
3.1. Ipoteza de lucru.....	45
3.2. Obiectivele generale ale studiului.....	51
4. Metodologia generală a cercetării.....	52
4.1. Materiale utilizate.....	52
4.2. Prepararea extractelor uleioase de <i>Usnea barbata</i>	54
4.3. Obținerea uleiului de nucă.....	54
4.4. Caracterizarea produselor uleioase.....	55
4.4.1. Analiza GC-MS.....	55
4.4.2. Conținutul total de fenoli.....	56
4.4.3. Spectroscopia FTIR.....	56
4.4.4. Microscopia AFM.....	57
4.4.5. Conținutul de metale grele.....	57
4.4.6. Stabilitatea la oxidare.....	58
4.4.7. Determinarea pH-ului.....	56

4.4.8. Capacitatea de întindere.....	56
4.4.9. Caracteristicile reologice.....	59
4.4.10. Activitatea antioxidantă.....	60
4.4.10.1. Metoda DPPH.....	60
4.4.10.2. Metoda ABTS.....	60
4.4.11. Determinarea SPF.....	61
4.4.12. Activitatea antimicrobiană.....	61
4.4.12.1. Determinarea CMI.....	61
4.4.12.2. Aderența microbiană la substrat inert.....	62
4.4.13. Analiza datelor.....	62
4.5. Formularea produselor cosmetice fotoprotectoare.....	62
4.6. Prepararea produselor cosmetice.....	63
4.7. Evaluarea farmacotehnică.....	64
4.7.1. Determinarea pH-ului.....	64
4.7.2. Capacitatea de întindere.....	64
4.7.3. Caracteristicile reologice.....	64
4.8. Determinarea SPF.....	64
4.9. Testarea <i>in vivo</i>	65
5. Caracterizarea extractului de <i>Usnea barbata</i> în ulei de jojoba.....	67
5.1. Densitatea și pH-ul.....	67
5.2. Analiza GC-MS.....	67
5.3. Conținutul total de fenoli.....	72
5.4. Analiza FTIR.....	74
5.5. Microscopia AFM.....	75
5.6. Conținutul de metale grele.....	78
5.7. Capacitatea de întindere.....	80
5.8. Proprietățile reologice.....	81
5.9. Stabilitatea la oxidare.....	83
5.10. Activitatea antioxidantă.....	84
5.10.1. Metoda DPPH.....	84
5.10.2. Metoda ABTS.....	85
5.11. Determinarea SPF.....	89
5.12. Activitate antimicrobiană.....	92
6. Caracterizarea extractului de <i>Usnea barbata</i> în ulei de Karanja.....	97

6.1. Conținutul total de fenoli.....	97
6.2. Analiza FTIR.....	98
6.3. Microscopia AFM.....	99
6.4. Conținutul de metale grele.....	101
6.5. Capacitatea de întindere.....	102
6.6. Proprietățile reologice.....	103
6.7. Stabilitatea la oxidare.....	105
6.8. Activitatea antioxidantă.....	105
6.9. Activitate antimicrobiană.....	107
6.10. Determinarea SPF.....	109
7. Caracterizarea uleiului de nucă.....	111
7.1. Analiza GC-MS.....	111
7.2. Conținutul de metale grele.....	111
7.3. Analiza FTIR.....	113
7.4. Microscopia AFM.....	113
7.5. Capacitatea de întindere.....	115
7.6. Proprietățile reologice.....	115
7.7. Stabilitatea la oxidare.....	117
7.8. Activitatea antioxidantă.....	117
7.8.1. Metoda DPPH.....	117
7.8.2. Metoda ABTS.....	118
7.9. Determinarea SPF.....	119
8. Caracterizarea produselor topice fotoprotectoare.....	121
8.1. Evaluarea organoleptică.....	121
8.2. Evaluarea farmaceutică.....	125
8.2.1. Determinarea pH-ului.....	125
8.2.2. Capacitatea de întindere.....	126
8.2.3. Caracteristicile reologice.....	129
8.2.4. Determinarea SPF.....	132
8.3. Testarea in vivo.....	133
8.3.1. pH-ul pielii.....	133
8.3.2. Gradul de hidratare.....	134
8.3.3. Conținutul de melanină.....	139
8.3.4. Nivelul de eritem.....	142

8.3.5. Elasticitatea cutanată.....	147
8.3.6. Fermitatea cutanată.....	148
8.3.7. Pierderea transepidermică a apei.....	152
8.3.8. Topografia pielii.....	153
<i>Concluzii și contribuții personale</i>	163
<i>Bibliografie</i>	
<i>Anexe</i>	

Lista de lucrări

Articole publicate în reviste indexate isi cu factor de impact

1. **Dan MA**, Ozon EA, Hovaneț MV, Viziteu HM, Mitu MA, Popovici V, Lupuliasa D, Popescu IA, Natural sunscreens – a literature review. *Farmacia*, 2024; 72 (2): 250-261 (IF 1,3). <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.2.2> (Capitolul 2: pag. 27-44; Concluzii și contribuții personale: pag. 163-164)
2. **Dan MA**, Fița AC, Nitulescu G, Ozon EA, Stancu E, Balta MD, Balaci T, Lupuliasa D, Popescu IA, Sunscreen topical products – from conventional to novel formulations. *Farmacia* 2024; 72 (3): 479-487 (IF 1,3). <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.3.1> (Capitolul 1: pag.15-26; Concluzii și contribuții personale: pag. 163)
3. **Dan MA**, Cioancă O, Popovici V, Musuc AM, Nițulescu GM, Anastasescu M, Ozon EA, Marinas IC, Guțu CM, Baconi DL, Udeanu DI, Hăncianu M, Șpac AF, Ungureanu AR, Lupuliasa D, Phytochemical Screening and Physicochemical Properties of Oil Extract of *Usnea barbata* L. F.H.Wigg from Călimani Mountains, Romania. *International Journal of Molecular Sciences*. 2026; 27(4):1903 (IF 4,9, Q1). <https://doi.org/10.3390/ijms27041903> (Capitolul 3: pag. 45-49; Capitolul 4: pag. 52-60; Capitolul 5: 67-84; Concluzii și contribuții personale: pag. 164-166)
4. **Dan MA**, Nedeia MI, Ozon EA, Ungurianu A, Ungureanu AR, Popovici V, Musuc AM, Bratan V, Cazacincu RG, Arsene AL, Lupuliasa D, Margină D, Antioxidant, Photoprotective, and Antimicrobial Potential of Oil Extract of *Usnea barbata* L. F.H.Wigg from Călimani Mountains, Romania. *Molecules*. 2026; 31(8):1324 (IF 4,6, Q1). <https://doi.org/10.3390/molecules31081324> (Capitolul 4: pag. 60-62; Capitolul 5: pag. 84-96; Concluzii și contribuții personale: pag. 164-166)
5. Hovaneț MV[†], **Dan MA[†]** (contribuție egală), Margină D, Ungurianu A, Musuc AM, Ozon EA, Bejenaru C, Rusu A, Anastasescu M, Bratan V, Guțu CM, Baconi DL, Lupuliasa D, Topor G, Evaluation of Antioxidant Activity and Physicochemical Characterization of Walnut (*Juglans regia* L.) Oil. *International Journal of Molecular Sciences*. 2026; 27(10):4390 (IF 4,9, Q1). <https://doi.org/10.3390/ijms27104390> (Capitolul 3: pag 45, 50-51; Capitolul 4: 52-53, 54-55, 57-60; Capitolul 7: 111-120, Concluzii și contribuții personale: pag. 165)

Listă de abrevieri și simboluri

abs (λ) – absorbanța la lungimea de undă (*absorbance*)

A/U – emulsii și creme tip apă în ulei

ABTS – acid 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic) (2,2'-*azino-bis* (3-*ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*))

ACIP – procentul de inhibare a capacității de aderență (*adherence capacity inhibition percentage*)

ADN – acid dezoxiribonucleic (*deoxyribonucleic acid*)

AFM – microscopie cu forță atomică (*Atomic Force Microscopy*)

Al₂O₃ – trioxid de aluminiu (*aluminium oxide*)

ANOVA – analiza de varianță (*Analysis of Variance*)

ARN – acid ribonucleic (*ribonucleic acid*)

As – arsen (*arsenicum*)

ATCC – Colecția Americană de Culturi Tipice (*American Type Culture Collection*)

ATCC 10231 – cultură de *Candida albicans*

ATCC 25922 – cultură de *Escherichia coli*

ATCC 25923 – cultură de *Staphylococcus aureus*

ATP – adenzintrifosfat (*Adenosine Triphosphate*)

BB – creme corectoare pentru imperfecțiuni (*Blemish Balm/Beauty Balm*)

CAS – număr de înregistrare în baza de date chimică mondială (*Chemical Abstracts Service number*)

CC – creme pentru corectarea culorii tenului (*Color Correcting/Color Control*)

CMI – concentrația minimă inhibitoare

DEM – doza eritematoasă minimă

DMSO – dimetilsulfoxid (*dimethyl sulfoxide*)

DO – densitate optică (*optical density*)

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

EE(λ) – efect eritemogenic al radiației la lungimea de undă λ (*erythema effectiveness*)

EFSA – Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (*European Food Safety Authority*)

FAO/OMS – Organizația pentru Alimentație și Agricultură/Organizația Mondială a Sănătății (*Food and Agriculture Organization / World Health Organization*)

FDA – Administrația Alimentelor și Medicamentelor (*Food and Drug Administration*)

FTIR – spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*)

GAE – echivalenți de acid galic (*Gallic Acid Equivalents*)

GC-MS – cromatografie de gaze cuplată cu spectrometria de masă (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*)

GFAAS – spectrofotometrie de absorbție atomică în cuptor de grafit (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

HPLC – cromatografie lichidă de înaltă performanță (*High-Performance Liquid Chromatography*)

I(λ) – intensitatea luminii solare (*solar intensity*)

IL-1 – interleukina 1 (*Interleukin-1*)

IL-6 – interleukina 6 (*Interleukin-6*)

IL-8 – interleukina 8 (*Interleukin-8*)

IL-10 – interleukina 10 (*Interleukin-10*)

INCI – Nomenclatura Internațională a Ingredientelor Cosmetice (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*)

IP – perioada de inducție (*Induction Period*)

IR – radiație infraroșie (*Infrared*)

JO – ulei de jojoba (*Jojoba Oil*)

JRO – ulei de nuc (*Juglans regia Oil*)

KO – ulei de Karanja (*Karanja Oil*)

MASI – scorul de severitate și întindere a melasmei (*Melasma Area and Severity Index*)

MDR – rezistența multiplă la medicamente (*Multi-Drug Resistance*)

micro-TiO₂ – oxid de titan micronizat (*micronized titanium dioxide*)

MSD – detector selectiv de masă (*Mass Selective Detector*)

MUFA – acizi grași mononesaturați (*Monounsaturated Fatty Acids*)

nano-TiO₂ – oxid de titan nanoparticulat (*titanium dioxide nanoparticles*)

Na₂CO₃ – carbonat de sodiu (*sodium carbonate*)

NO – monoxid de azot (*nitric oxide*)

OE – uleiuri esențiale (*essential oils*)

OTC – medicamente eliberate fără rețetă (*Over the Counter*)

PA – grad de protecție față de radiațiile UVA (*Protection Grade of UVA*)

Pb – plumb (*plumbum*)

PEG 400 – polietilen glicol 400 (*polyethylene glycol 400*)

PEO – ulei esențial de mentă (*Peppermint Essential Oil*)

PGE-2 – prostaglandina E2 (*Prostaglandin E2*)

pH – logaritmul negativ al activității ionilor de hidrogen (*potential of hydrogen*)

PJO – amestec uleios din ulei esențial de mentă și ulei de jojoba (*Peppermint and Jojoba Oil*)

PPD – întunecarea persistentă a pigmentului (*Persistent Pigment Darkening*)

PUFA – acizi grași polinesaturați (*Polyunsaturated Fatty Acids*)

RI – indice de retenție (*Retention Index*)

ROS – specii reactive de oxigen (*Reactive Oxygen Species*)

Rpv – parametru de rugozitate vârf-vale (*Peak-to-Valley roughness*)

Rq – rugozitatea medie pătratică (*Root Mean Square roughness*)

SC-CO₂ – dioxid de carbon în stare supercritică (*Supercritical CO₂*)

SCCS – Comitetul Științific pentru Siguranța Consumatorilor (*Scientific Committee on Consumer Safety*)

SiO₂ – dioxid de siliciu (*silicon dioxide*)

SOD – superoxid dismutaza (*Superoxide Dismutase*)

SPF – factor de protecție solară (*Sun Protection Factor*)

TGF-beta – factor de creștere transformator beta (*Transforming Growth Factor-β*)

Ti-SiO₂ – asociație titan–dioxid de siliciu

TiO₂ – dioxid de titan (*titanium dioxide*)

TNF-alfa – factorul de necroză tumorală alfa (*Tumor Necrosis Factor-α*)

TPC – conținutul total de compuși fenolici (*Total Phenolic Content*)

TRPM8 – canal de potențial receptor tranzitoriu melastatină 8 (*Transient Receptor Potential Melastatin 8*)

U/A – emulsii și creme tip ulei în apă

UBKO – extract de *Usnea barbata* cu ulei de *Karanja*

UBO – ulei de *Usnea barbata*

UBPJO – extract de *Usnea barbata* în amestec uleios de ulei esențial de mentă și ulei de jojoba

UE – Uniunea Europeană (*European Union*)

UHPLC – cromatografie lichidă de ultra-înaltă performanță (*Ultra-High Performance Liquid Chromatography*)

UV – radiații ultraviolete (*Ultraviolet*)

UVA – radiații ultraviolete tip A

UVA1 – radiații ultraviolete tip A1

UVA2 – radiații ultraviolete tip A2

UVB – radiații ultraviolete tip B

UVC – radiații ultraviolete tip C

UV-Vis – spectrofotometrie în domeniul ultraviolet-vizibil

wINCI – Nomenclatura Internațională a Ingredientelor Cosmetice în format electronic (*web-INCI*)

ZnO – oxid de zinc (*zinc oxide*)

ZnO-NP – oxid de zinc sub formă de nanoparticule (*zinc oxide nanoparticles*)

λ – lungime de undă (*lambda*)

Introducere

În prezent, industria cosmetică traversează o etapă de reorientare strategică spre dezvoltarea de formule ecologice, bazate pe materii prime regenerabile și sustenabile de origine vegetală. Această tranziție răspunde atât preferințelor ecologice ale consumatorilor, cât și criteriilor industriale de reducere a impactului asupra mediului înconjurător.

Obiectivul principal al prezentei teze de doctorat constă în valorificarea superioară a unor resurse vegetale prin proiectarea și optimizarea proceselor de obținere a unor extracte uleioase bioactive, urmată de caracterizarea lor fitochimică și integrarea lor tehnologică ca ingrediente funcționale în formule dermato-cosmetice inovatoare, cu acțiune fotoprotectoare și antioxidantă.

În prima etapă am urmărit obținerea a două extracte uleioase de *Usnea barbata*, lichen recoltat din Munții Călimani, România, în ulei de jojoba, respectiv ulei de Karanja și a uleiului din semințele de *Juglans regia* L. recoltate din Horezu, România. Extractele uleioase de *U. barbata* au fost obținut prin macerare la rece, iar uleiul de nucă a fost obținut prin presarea la rece.

Cele trei extracte uleioase au fost evaluate din punct de vedere fizico-chimic și fitochimic. Screening-ul fitochimic a fost efectuat utilizând cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS), metoda Folin-Ciocalteu și spectrofotometria de absorbție atomică în cuptor de grafit (GFAAS). Caracterizarea fizico-chimică s-a realizat prin microscopie cu forță atomică (AFM) și spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR). Caracteristicile reologice au fost stabilite prin determinarea capacității de întindere și a vâscozității, iar stabilitatea produselor a fost evaluată prin rezistența la oxidare măsurată ca timpul de atingere a punctului de început al oxidării, perioada de inducție (IP).

Potențialul bioactiv a fost determinat prin investigarea acțiunii antioxidante utilizând mai multe metode analitice, a acțiunii antimicrobiene asupra *S. aureus*, *E. coli* și *C. albicans* și a eficacității fotoprotectoare (evaluată prin măsurători SPF).

Ulterior, extractele uleioase au fost incorporate în diferite formulări topice, variind raportul dintre componentele uleioase și bazele selectate. Produsele cosmetice au fost studiate pentru stabilirea comportamentului reologic și farmacotehnic necesar pentru asigurarea unei texturi, etalări și profil senzorial corespunzător.

În final, a fost determinat factorul de protecție solară al formulărilor obținute și a fost testate compatibilitatea cutanată și siguranța la aplicare prin studii *in vivo* pe voluntari umani.

I. PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL 1

Fotoprotectoare topice – de la produse convenționale până la formulări inovatoare

La formularea produselor topice fotoprotectoare se urmărește selectarea ingredientelor active, concentrația acestora, tipul de vehicul și forma farmaceutică astfel încât să fie garantată eficacitatea protecției solare. Scopul principal în formularea produselor de protecție solară moderne este dezvoltarea celui mai bun preparat care să îndeplinească obiectivele dorite: eficacitatea împotriva radiațiilor UV caracterizată prin factorul de protecție solară (SPF), tipul de protecție (UVA, UVB sau spectru larg) și rezistența la apă. Produsele fotoprotectoare sunt sisteme emulsionate, soluții hidroalcoolice, sisteme anhidre sau geluri. Există o gamă largă de produse fotoprotectoare topice destinate aplicării pe diferite zone ale corpului: cap (păr, piele, părți sensibile ale feței: buze, nas, conturul ochilor), mâini, corp. Deoarece utilizarea nanoparticulelor de TiO₂ este permisă în formulările cosmetice, mai multe studii au încercat să mărească eficacitatea, să reducă potențialul de efecte secundare și să mărească complianța pentru aceste produse [1].

CAPITOLUL 2

Fotoprotectoare naturale

Având în vedere toxicitatea filtrelor UV de sinteză, în ultimii ani, cercetările s-au axat pe găsirea unor alternative eficiente, netoxice pentru om și mediu. Cele mai multe studii au

arătat că mecanismul primar al activității fotoprotectoare este capacitatea antioxidantă a diverșilor metaboliți secundari ai plantelor, care se realizează prin limitarea oxidării proteinelor, lipidelor, ADN-ului sau a altor molecule și prin împiedicarea fazei de propagare a reacțiilor oxidative în lanț. Metaboliții secundari ai plantelor, din punct de vedere structural, se împart în trei mari clase: antioxidanți, alcaloizi și uleiuri vegetale. Rezultatele numeroaselor studii clinice și preclinice justifică utilizarea plantelor medicinale și a extractelor acestora în produse fotoprotectoare și anti-îmbătrânire și deschid o nouă perspectivă pentru dezvoltarea unor astfel de produse [2].

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL 3

Ipoteza de lucru și obiectivele generale

3.1. Ipoteza de lucru

Studiile din teza de doctorat își propun să investigheze proprietățile fizico-chimice, funcționale și farmacologice ale extractului de *U. barbata* în uleiul de jojoba și în uleiul de Karanja, pentru posibile aplicații în îngrijirea pielii. De asemenea, a fost urmărită evaluarea cuprinzătoare a uleiului de nucă presat la rece obținut din nuci cultivate într-o anumită regiune a României, combinând caracterizarea GC-MS, evaluarea activității antioxidante, determinarea indicelui de stabilitate oxidativă și evaluarea factorului de protecție solară (SPF) *in vitro* pentru a explora proprietatea ca materie primă dermato-cosmetică printr-o abordare multi-analitică.

3.2. Obiectivele generale ale studiului

Obiectivele generale ale studiului sunt:

1. Prepararea extractelor uleioase de *Usnea barbata* în ulei de jojoba și ulei de Karanja prin macerare.
2. Obținerea uleiului de nucă prin presare la rece
3. Analizarea proprietăților fizico-chimice, structurale și reologice ale extractelor uleioase.
4. Testarea acțiunii antioxidantă, antimicrobiană și fotoprotectoare a extractelor uleioase.

5. Dezvoltarea unor produse cosmetice în care extractele uleioase sunt încorporate în diferite baze semisolide.
6. Evaluarea proprietăților farmacotehnice ale preparatelor topice.
7. Analizarea capacității fotoprotectoare a produselor cosmetice prin măsurarea *in vitro* a SPF.
8. Studii *in vivo* pe voluntari umani pentru a stabili influența produselor asupra parametrilor esențiali din piele.
- 9.

CAPITOLUL 4

Metodologia generală a cercetării

4.1. Materiale utilizate

Lichenul *U. barbata* a fost recoltat în martie 2024 din Munții Călimani, România (47°28' N, 25°13' E, la o altitudine de 900 m). Uleiul de jojoba (JO) a fost obținut prin presarea la rece a semințelor de *Simmondsia chinensis* (Link) CK Schneid. și a fost furnizat de Fagron Hellas (Trikala, Grecia). Este de înaltă puritate și potrivit pentru aplicații cosmetice. Vitamina E a fost achiziționată de la același furnizor. Uleiul esențial de mentă (PEO) a fost achiziționat de la Laboratoarele Fares Biovital SRL (Orăștie, România). Acesta a fost diluat în combinația JO-Vitamina E (ulei purtător) până la 5%. Amestecul uleios (PJO) a fost obținut prin agitare la 500 rpm timp de 10 minute la temperatura camerei (22°) folosind un agitator magnetic Heidolph MR 3001K (Heidolph Instruments GmbH, Schwabach, Germania).

Uleiul de Karanja (KO) a fost obținut prin presarea la rece a semințelor de *Pongamia pinnata* (L.). Pierre (Fabaceae) și a fost furnizat de Fagron, Grecia.

Uleiul de nucă a fost obținut prin presarea la rece a semințelor de *Juglans regia* L. recoltate din Horezu, România.

Uleiul de armurariu, extras prin presare la rece din semințele de *Silybum Marianum*, este produs de către Ellemental®, România. Cafeina și glicerina sunt obținute de la Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germania.

Toate substanțele chimice, solvenții și reactivii utilizați au fost de calitate analitică. Dimetilsulfoxidul (DMSO), carbonatul de sodiu (Na₂CO₃) și reactivul Folin-Ciocalteu au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Schnelldorf, Germania). Soluțiile standard

de acid azotic de înaltă puritate 69% (grad urme) conținând 1000 mg/L H_3AsO_4 în acid azotic 0,5 M și 1000 mg/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ în acid azotic 0,5 M, împreună cu 30% H_2O_2 , 96% etanol, metanol, violet cristalin, acid acetic și apă deionizată ultrapură au fost obținute de la Merck Millipore (Burlington, MA, SUA). Tulpinile microbiene au fost obținute de la Colecția Americană de Culturi Tipice (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 și *Candida albicans* ATCC 10231. Mediile de cultură au fost obținute de la doi furnizori. Agarul triptic de soia pentru tulpinile bacteriene a fost achiziționat de la Sigma-Aldrich Merck (Dartmouth, Germania), iar RPMI 1640 pentru fungi a fost furnizat de American Biorganics (Buffalo, NY, SUA).

Bazele de cremă naturale (Emolivan™ pentru E, Versatile™ Rich pentru V, Nourivan™ Antiox pentru N, Fitalite™ pentru F) sunt fabricate de Fagron, Grecia, și au fost donate cu amabilitate de Origin Pharma Distribution SRL, Voluntari, Ilfov, România.

4.2.Prepararea extractelor uleioase de *Usnea barbata* în ulei de jojoba și ulei de Karanja

Extracția *U. barbata* în PJO și KO a fost efectuată prin macerare la rece, ceea ce păstrează integritatea compușilor bioactivi și previne degradarea termică. Talii de licheni uscați au fost măcinați și trecuți prin site succesive de 2,5 mm (DIN 1171) și 1,2 mm ochiuri (DIN 117) pentru omogenizare. Aproape 20 g din această masă au fost cântărite cu precizie folosind o balanță analitică Kern, plasată într-un recipient din sticlă brună de 1000 mL și s-au adăugat 500 mL de PJO, respective KO. Procesul de extracție a fost efectuat într-un loc protejat de lumină, la o temperatură constantă (21-22 °C) timp de trei luni; recipientul a fost agitat manual zilnic [3]. După această perioadă, extractele uleioase (UBPJO și UBKO) au fost filtrate printr-un filtru de tifon din bumbac într-un vas brun prevăzut cu un dop etanș. Apoi, extractele uleioase de *U. barbata* au fost conservate într-o încăpere la 21–22 °C, ferite de lumina soarelui [4].

4.3.Obținerea uleiului de nuc

Metoda de sinteză a inclus următorii pași:

- Uscarea materialului vegetal (miez de nucă), cu 100 g de produs vegetal cântărit cu precizie, până la un conținut de umiditate de 4%, utilizând un uscător de fructe (Zilan model ZLN-96451, Istanbul, Turcia) la o presiune reziduală de 60–100 mm Hg și 40 °C;

- Măcinarea materialului vegetal astfel încât cel puțin 60% din particule să treacă printr-o sită din oțel inoxidabil cu ochiuri de 1 mm (DIN ISO 3310-1) de la NEXOPART GmbH & Co. K, Oelde, Germania, pentru omogenizare;
- Presarea materialului vegetal sub presiune crescătoare într-o presă cu funcționare continuă (OlisLab 7100, produsă de OLIS Ltd., Odessa, Ucraina).

4.4. Caracterizarea produselor uleioase

Produsele uleioase au fost caracterizate prin analiza GC-MS efectuată pe un cromatograf de gaze Agilent 7890A (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, SUA) echipat cu un detector selectiv de masă (MSD) Agilent 5975C. Determinarea conținutului total de compuși fenolici (TPC) a fost efectuată utilizând metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu, așa cum este descrisă în [5]. Măsurătorile spectroscopice în infraroșu au fost efectuate utilizând spectrofotometrul NICOLET 6700 FT-IR (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, SUA) cu transformată Fourier (FT-IR), în transmisie în intervalul $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$. Analiza prin microscopie cu forță atomică (AFM) a fost efectuată așa cum s-a descris anterior [4]. Metalele grele, arsenicul (As) și plumbul (Pb), au fost identificate folosind spectrofotometria de absorbție atomică în cuptor de grafit (GFAAS) [6]. Reactorul Velp OXITEST (Velp Scientifica Srl, Usmate Velate, MB, Italia), care accelerează oxidarea în condiții controlate și repetabile, a fost utilizat pentru a evalua stabilitatea oxidativă a probelor uleioase prin măsurarea perioadei de inducție. pH-ul a fost măsurat utilizând un pH-metru CONSORT P601 (Consort Bvba, Turnhout, Belgia) echipat cu un electrod. Comportamentul de întindere a tuturor probelor a fost evaluat folosind metoda extensiometrică. Determinările reologice au fost efectuate utilizând un viscozimetru rotativ B One Plus (Lamy Rheology, Champagne-au-Mont-d'Or, Franța). Capacitatea de eliminare a radicalilor liberi a produselor uleioase a fost testată utilizând metoda 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) [7] și prin metoda bazată pe ABTS (acid 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic)) [8]. Factorul de protecție solară (SPF) al probelor de ulei a fost determinat utilizând un spectrofotometru Perkin-Elmer Lambda 35 UV-Vis (Perkin-Elmer Inc., Waltham, MA, SUA) în modul de transmisie. Probele de ulei au fost plasate în microcuve cu o cale de lumină de 10 mm, iar spectrele de absorbanță au fost înregistrate pe 290–320 nm la intervale de 5 nm, cu trei determinări în fiecare punct. Valorile SPF au fost calculate conform protocoalelor stabilite folosind formula Mansur [9]. Pentru a evalua

activitatea antimicrobiană a produselor uleioase, s-a determinat concentrația minimă inhibitoare (CMI) și capacitatea de aderență a tulpinilor la un substrat inert (ACIP = procentul de inhibare a capacității de aderență), utilizând următoarele tulpini de referință achiziționate de la American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 și *Candida albicans* ATCC 10231.

4.5. Formularea produselor cosmetice fotoprotectoare

Scopul a fost dezvoltarea de produse fotoprotectoare care conțin cafeină, silimarină, UBJO, UBKO și ulei de nucă încorporate în diferite baze. Au fost selectate patru baze: Emolivan™ (F1-F4), Versatile™ Rich (F5-F8), Nourivan™ Antiox (F9-F12), Fitalite™ (F13-16) și o combinație a tuturor celor patru în cantități egale (F17-F20). Glicerina (%) a fost utilizată pentru a dizolva cafeina. Toate cele patru baze topice sunt naturale, sigure și bine tolerate, fiecare cu caracteristici distincte: Emolivan™ este o bază cold-cream A/U, Versatile™ Rich este o bază vanishing cream hidrofilă de tip U/A, Nourivan™ Antiox este o cremă U/A, iar Fitalite™ este o bază de cremă gel (emulgel) hidrofilă.

Cele 20 de formulări sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Formulările produselor cosmetice fotoprotectoare

Ingredient	Formulare/Cantitate (g)																			
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20
Cafeină	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Ulei de amurariu	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
UBJO	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10
UBKO	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10
JRO	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10	5	10	10	10
Glicerină	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tween 80	-	-	-	-	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Emolivan™	65	65	65	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16,25	16,25	16,25	15

Versatile™ Rich	-	-	-	-	63	63	63	58	-	-	-	-	-	-	-	-	16,25	16,25	16,25	15
Nburivan™ Antiox	-	-	-	-	-	-	-	-	65	65	65	60	-	-	-	-	16,25	16,25	16,25	15
Fitalite™	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	65	65	65	60	16,25	16,25	16,25	15
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

4.6.Prepararea produselor cosmetice

Cafeina a fost triturată pentru obținerea unei pulberi fine, apoi a fost dizolvată în glicerina încălzită în prealabil la 70°C pe baia de apă, într-o capsulă. Într-un recipient de plastic pentru omogenizator utilizat la prepararea formelor farmaceutice semisolide produs de FagronLab™, Germania, a fost cântărită jumătate din baza de cremă utilizată, apoi am adăugat, pe rând, cafeina dizolvată în glicerină, uleiul de armurariu, JRO, UBJO, UBKO și restul de bază. Flaconul astfel umplut, a fost supus amestecării la viteza de rotație 300 rpm, la temperature camerei (22°C), timp de 5 minute, în omogenizatorul FagronLab™ Unguator EMP, fabricat în Scheiplitz, Germania și achiziționat de la Origin Pharma Distribution SRL, Voluntari, Ilfov, România.

În cazul formulărilor F5-F8 a fost necesară adăugarea ulterioară a 2g Tween 80 deoarece baza nu încorporase uleiurile în totalitate. Cele 2g Tween 80 au fost adăugate la sfârșit și amestecul a fost omogenizat cu ajutorul unui mixer electric cu fir tip HB-202 RL/X-4293 de la Mayam, China.

4.7.Evaluarea farmacotehnică a produselor cosmetice

Evaluarea farmacotehnică a constat în determinarea pH-ului, capacității de întindere și a caracteristicilor reologice, utilizând metodele anterior menționate.

4.8.Determinarea SPF

Determinarea SPF s-a făcut prin aceeași procedură descrisă în anterior pe câte 1g din fiecare formulare.

4.9.Testarea *in vivo*

Testările au fost efectuate cu dispozitivul Multi Probe Adapter MPA 6 fabricat de Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germania, folosind sondele acestuia pentru a determina: pH-

ul (Skin-pH-Meter PH 905), gradul de hidratare (Corneometer[®] CM 825), conținutul de melanină și nivelul de eritem (Mexameter[®] MX 18), elasticitatea (Cutometer[®] Dual MPA 580), fermitatea (Indentometer IDM 80) și pierderea transepidermică de apă (cu Tewameter[®] TM Hex, Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germania). Topografia pielii a fost determinată prin analiza imaginilor cu Visioscan[®] VC 20plus, fabricat tot de Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germania.

Experimentele au fost efectuate pe pielea de la nivelul antebrățului. Au fost testați câte 5 voluntari sănătoși pentru fiecare 4 formulări corespunzătoare fiecărui tip de bază, respective amestecului de baze. Subiecții testați, identificați drept femei, respective bărbați, au avut vârste diferite. Aceștia au fost informați despre produsele care urmează să fie aplicate pe piele și și-au dat consimțământul informat, verbal și în scris. Voluntarii au fost initial consultați de un medic dermatolog care a atestat starea de sănătate a acestora.

Testările au fost efectuate la aceeași oră (10:00), în aceleași condiții de temperatură (22°C) și umiditate (40%). Voluntarii au aplicat produsele în fiecare seară, menținându-le în contact cu pielea toată noaptea (7 ore). Pe întreaga perioadă de desfășurare a studiului, li s-a cerut să nu aplice alte produse pe zonele de piele testate. Fiecare zonă de aplicare a fost de 3×3 cm². Măsurătorile au fost efectuate în șase momente de timp diferite: înainte de prima aplicare, după 30 de minute, 7 zile, 14 zile, 21 zile și 28 zile după prima aplicare.

Pentru F1-F4 cu baza Emolivan[™], din cei 5 voluntari (S1-S5), 4 s-au identificat femei și unul bărbat, vârstele fiind cuprinse între 43 și 60 de ani, cu o medie de 50,4 ani. Pentru F5-F8 cu baza Versatile[™] Rich, din cei 5 voluntari (S6-S10), 3 s-au identificat femei și 2 bărbați, vârstele fiind cuprinse între 21 și 60 de ani, cu o medie de 44,2 ani. Pentru F9-F12 cu baza Nourivan[™] Antiox, din cei 5 voluntari (S11-S15), 4 s-au identificat femei și unul bărbat, vârstele fiind cuprinse între 22 și 63 de ani, cu o medie de 50,4 ani. Pentru F13-F16 cu baza Fitalite[™], toți cei 5 voluntari (S16-S20) s-au identificat femei, vârstele fiind cuprinse între 47 și 63 de ani, cu o medie de 56 ani. Pentru F17-F20 cu toate bazele în proporții egale, toți cei 5 voluntari (S21-S25) s-au identificat femei, vârstele fiind cuprinse între 24 și 60 de ani, cu o medie de 42,6 ani.

Studiul a fost realizat în conformitate cu Declarația de la Helsinki și aprobat de Comisia de Etică și Deontologie Universitară și Științifică a Universității de Medicină și Farmacie din Craiova (nr. 72/11 mai 2021).

CAPITOLUL 5

Caracterizarea extractului de *Usnea barbata* în ulei de jojoba

Probele au arătat o prezență predominantă a derivaților monoterpenici, cum ar fi L-limonenul (PJO: 9,93%, UBPJO: 7,11%), L-mentona (PJO: 3,94%, UBPJO: 2,97%) și (-)-izomentona/cis-p-mentan-3-onă (PJO: 18,34%, UBPJO: 19,50%). Conținutul de izomentonă este cel mai mare în PEO (26,52%, $p < 0,05$). În UBPJO, însă, au fost detectați și acizi grași cu lanț scurt, probabil proveniți din fracția lipidică a *U. barbata*. Acești compuși suplimentari evidențiază încorporarea cu succes a constituenților licheni bioactivi în matricea uleioasă.

TPC semnificativ mai mare în UBPJO vs. PJO ($p < 0,05$) poate fi explicată prin abundența metaboliților secundari cu structură fenolică din lichen, dintre care cel mai important este acidul usnic. Extractul de *U. barbata* din uleiul de canola a avut 0,915 mg/g acid usnic și TPC = $2,592 \pm 0,097$ mg PyE/g. Toți ceilalți metaboliți specifici (depside și depsidone, cu structuri particulare) au fost, de asemenea, incluși în grupul extins de compuși fenolici [10,11].

Spectrul FTIR al UBPJO nu prezintă diferențe structurale semnificative față de cel al PJO, iar toate benzile caracteristice de absorbție ale uleiului sunt menținute. Au fost observate câteva variații minore ale intensităților vârfurilor. Aceste aspecte sugerează că tratamentul de procesare nu modifică structurile chimice ale esterilor acizilor grași, indicând faptul că compoziția chimică generală a uleiului este păstrată în produsul final.

Adăugarea de *U. barbata* a dus la o modificare distinctă a morfologiei PJO. Morfologia suprafeței prezintă un efect de netezire notabil. Scanările liniare indică amplitudini de oscilație mai mici, reflectate în valori Rq și Rpv mai mici decât pentru PJO. Aceste descoperiri sugerează că *U. barbata* interacționează cu matricea uleiului, ducând la rearanjări structurale care contribuie la o suprafață compactă.

Concentrațiile de arsen au variat între 0,157 și 0,174 $\mu\text{g/g}$. Valorile înregistrate sunt puțin peste limita admisă de 0,10 $\mu\text{g/g}$, stabilită prin Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 și Codex Alimentarius (FAO/OMS) pentru alimente, dar rămân în limitele unui interval considerat sigur pentru uleiurile vegetale cosmetice sau nerafinate [12].

Deși, după aplicarea plăcii superioare, suprafața de întindere a UBPJO este mai mică decât cea a PJO. Ulterior, când se adaugă greutate suplimentare, extensibilitatea UBPJO devine mai mare decât cea a PJO (9587 ± 2146 vs. 8704 ± 1445 , $p > 0,05$).

Toate probele au prezentat o fluiditate inițială non-newtoniană, dar performanța lor la rate mari de forfecare a diferit. PJO prezintă un comportament pseudoplastic, vâscozitatea scăzând continuu odată cu creșterea ratei de forfecare. Între timp, UBPJO afișează același comportament până la 150 rpm, apoi rămâne constant în intervalul 150-250 rpm, indicând o tranziție către fluiditate newtoniană.

Pe baza rezultatelor înregistrate, ambele probe au o durată lungă de valabilitate, ceea ce le face potrivite pentru utilizare și depozitare pe termen lung. Mai mult, încorporarea lor în produse topice poate asigura atât potențialul antioxidant tehnologic, cât și cel biologic [4].

Rezultatele arată că dinamica standard a densității optice (DO) a fost de 4,74%. Pentru UBPJO, ΔDO (%) a fost aproape nesemnificativă la cele mai mari diluții (0,19% pentru diluția 1:25 și 1,50% pentru diluția 1:10), dar a devenit extrem de semnificativă pentru probele 1:5, 1:1 și nediluate (6,87%, 12,03% și, respectiv, 19,92%). Aceasta indică o capacitate de captare a radicalilor dependentă de concentrație. Per total, valorile ΔDO pentru UBPJO au fost de 1,5 ori mai mari decât pentru PJO.

Rezultatele ABTS arată o diluție optimă 1:1 pentru UBPJO, unde captarea maximă a radicalilor coincide cu o solubilitate mai mare în alcool.

Rezultatele obținute au indicat valori SPF de ~30,58 pentru PJO și ~32,41 pentru UBPJO. Aceste valori demonstrează capacitatea ambelor formulări de a acționa ca agenți fotoprotectori naturali, iar diferența mai mică dintre cele două confirmă o creștere a eficienței atunci când se utilizează combinația cu extract de lichen.

UBPJO este semnificativ mai eficient decât PJO împotriva *S. aureus* și *C. albicans*, după cum reiese din valorile MIC mai mici ($p < 0,05$). Asupra *E. coli*, T80 are cel mai mare efect inhibitor ($p > 0,05$).

În schimb, UBPJO la MIC/2 a prezentat o activitate antibiofilm substanțială împotriva *S. aureus* ($224,63 \pm 2,85$ vs. $7,95 \pm 5,11$, $p < 0,001$). O activitate semnificativ mai mare a fost demonstrată la MIC/4 ($35,01 \pm 8,47$ vs. $7,87 \pm 3,12$, $p < 0,01$).

Împotriva *C. albicans*, UBPJO la MIC/2 a prezentat o valoare ACIP mai mare decât PJO ($63,75 \pm 32,66$ vs. $30,99 \pm 18,42$; $p > 0,05$), sugerând o influență moderată asupra aderenței fungice [14].

CAPITOLUL 6

Caracterizarea extractului de *Usnea barbata* în ulei de Karanja

Uleiul de Karanja conținea niveluri apreciabile de metaboliți fenolici. Extracția *U. barbata* în KO a dus la o creștere semnificativă a concentrației de TPC (567,16 vs. 433,26 $\mu\text{g GAE/mL}$ în proba de ulei, $p < 0,05$). Probele de ulei emulsionate cu PEG 400 au avut niveluri mai ridicate de TPC, cu diferențe semnificative între KO și UBKO.

Spectrul IR al KO relevă structuri moleculare bogate în lanțuri alifatic saturate, evidențiate prin vibrațiile de întindere C–H la $2922,6\text{ cm}^{-1}$ și $2853,2\text{ cm}^{-1}$, tipice grupărilor metilenice ($-\text{CH}_2$) din derivații alcanici [15].

Analiza AFM evidențiază mai multe diferențe morfologice între KO și UBKO la ambele scări examinate de $(10 \times 10)\text{ }\mu\text{m}^2$ și $(4 \times 4)\text{ }\mu\text{m}^2$. KO prezintă o suprafață în mare parte uniformă, caracterizată prin structuri sau agregate mai mari, dispersate sporadic.

Conținutul de arsen ($\mu\text{g/g}$) este mai mare în UBKO decât în KO (0,203 față de 0,131), în timp ce conținutul de plumb este mai mic (0,056 față de 0,065).

În ceea ce privește întinderea probelor, inițial, după aplicarea plăcii superioare, suprafața de întindere a UBKO a fost mai mică decât cea a KO.

Deși s-a observat o scădere rapidă a vâscozității dinamice odată cu creșterea sau scăderea ratei de forfecare, în intervalul inițial de 50 până la 100 rpm (la rate mici de forfecare), KO prezintă un comportament de diluare la forfecare. Ulterior, vâscozitatea dinamică variază de la aproximativ 250 la 260 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ la rate de forfecare mai mari, indicând o tranziție către un comportament newtonian.

Rezultatele arată că UBKO a avut o stabilitate oxidativă puțin mai mare ($\text{IP} = 6,45$) decât KO ($\text{IP} = 6$).

Soluția stoc de KO a raportat cea mai puternică activitate de eliminare a radicalilor DPPH ($\Delta\text{OD} = 70,92\%$), mai mare decât UBKO ($\Delta\text{OD} = 64,64\%$). Diluțiile UBKO au prezentat o capacitate antioxidantă mai mare decât KO, care a scăzut în general odată cu gradul de diluție de la 1:1 la 1:25.

UBKO a avut cea mai mare activitate inhibitorie împotriva *S. aureus* și *C. albicans* și cea mai mică eficacitate antibacteriană împotriva *E. coli*.

Valoarea SPF pentru KO este de 29,8, iar pentru UBKO este de 30,9.

CAPITOLUL 7

Caracterizarea uleiului de nucă

Rezultatele analizei GC-MS a probei de JRO sililat relevă un amestec de acizi grași nesaturați liberi și steroli. Concentrația de arsenic detectată (0,145 mg/kg) este puțin peste limita maximă de 0,10 mg/kg stabilită de Codex Alimentarius pentru uleiurile comestibile. Cu toate acestea, acest studiu se concentrează pe aplicarea topică a uleiului de nucă. În industria cosmetică, limitele de siguranță pentru metalele grele din materiile prime sunt în general mai mari decât pentru alimente (adesea până la 2 mg/kg pentru arsenic în diverse ghiduri internaționale), deoarece absorbția cutanată a arsenicului anorganic este semnificativ mai mică decât absorbția gastrointestinală.

Conținutul de plumb din proba JRO se situează cu aproximativ jumătate din limita maximă admisă de 100 $\mu\text{g/kg}$ (0,1 mg/kg) stabilită de FAO/OMS [15] și CODEX [12] pentru metalele grele din uleiurile și grăsimile vegetale.

Proba JRO a relevat o morfologie a suprafeței eterogenă, caracterizată prin agregate nanometrice dispersate într-o matrice relativ uniformă. Profilurile de înălțime au indicat variații de ordinul câtorva nanometri (3–5 nm), confirmând absența unei rețele cristaline sau fibrilare bine definite.

S-a observat că proba JRO are o dispersie mai mare, crescând ușor după primele 50 g de masă aplicată. Rezultatul este corelat cu rezultatele măsurătorilor AFM, care demonstrează morfologia netedă a suprafeței.

Perioada de inducție (IP) înregistrată pentru JRO a fost de $6,33 \pm 0,05$ h. IP-ul determinat demonstrează o rezistență moderată la oxidare a JRO.

În ceea ce privește efectul antioxidant al probelor JRO, s-a obținut un procent de 81,3% pentru proba nediluată, iar apoi capacitatea antioxidantă diminuează odată cu creșterea diluției.

Valoarea SPF găsită pentru proba JRO a fost de $32,93 \pm 1,65$ și a scăzut odată cu diluarea [16].

CAPITOLUL 8

Caracterizarea produselor topice fotoprotectoare

Se remarcă faptul că toate produsele preparate au un aspect uniform, fără separări ale fazelor sau aglomerări de particule, au consistență corespunzătoare aplicării topice, iar mirosul și culoarea sunt caracteristice componentelor.

Toate cele 20 de produse respectă această aciditate naturală, putând concluziona că niciuna dintre aceste creme nu va perturba bariera naturală a pielii.

Se remarcă faptul că toate formulările prezintă o capacitate de întindere corespunzătoare, extensibilitatea crescând odată cu creșterea masei aplicate. Preparatele se vor etala ușor pe piele.

Se poate observa că cea mai mare capacitate de întindere o prezintă formulările F5-F8, pe bază de Versatile™ Rich (bază de cremă hidrofilă), urmată de baza de tip emulgel Fitalite™ (F13-16). Cele mai scăzute valori au fost înregistrate pentru F9-F12 cu baza Nourivan™ Antiox.

În timp ce formulările F9-F12 vor avea un timp de contact mai prelungit cu pielea, formulările pe bază de Versatile™ Rich și Fitalite™ sunt mai potrivite pentru produsele fotoprotectoare ce trebuie să acopere suprafețe mari rapid.

Formulările F5-F8 și F13-F16 au înregistrat vâscozități inferioare și profile de curgere mai fluide, fiind asociate cu texturi lejere, absorbție rapidă și o aplicare facilă. Aceste atribute reologice sunt esențiale pentru optimizarea produselor destinate utilizării cotidiene. În contrast, formulările F9-F12 se disting printr-o vâscozitate superioară, indicator al unei matrici structurale mai dense și mai robuste. Această rezistență crescută la curgere are scopul de a potența efectul ocluziv, generând un film protector pe suprafața cutanată care limitează pierderea transepidermică de apă. Astfel, se asigură un contact prelungit al ingredientelor active cu țesutul.

Preparatele pe bază de Emolivan™ prezintă cele mai mari valori de SPF, F4 prezentând valoarea maximă înregistrată (SPF aproximativ 12). Opus, produsele cu Nourivan™ Antiox prezintă cele mai scăzute Valori ale SPF (aproximativ 7 pentru F9).

Se observă faptul că cele mai mici Valori ale SPF sunt pentru formulările care conțin o cantitate mai mica de ulei de nuc, iar cele mai mari pentru formulările ce conțin cele trei uleiuri în cantități egale.

În cazul tuturor formulărilor, valoarea medie a pH-ului pielii subiecților testați a crescut liniar în timp pe parcursul utilizării zilnice.

Toate formulările au determinat o creștere progresivă a pH-ului cutanat, valoarea maximă fiind înregistrată după un interval de 4 săptămâni de aplicare zilnică. Cea mai mare creștere a valorii pH-ului cutanat se remarcă pentru subiecții tratați cu produsele pe bază de Versatile™ Rich (F5-F8).

Se remarcă, în cazul tuturor formulărilor, o creștere semnificativă a nivelului de hidratare cutanată încă după prima aplicare a produselor și ulterior, o creștere liniară pe parcursul utilizării, atingând valori maxime la 28 de zile de aplicare continuă. Cea mai marcantă creștere a hidratării cutanate se marcă în cazul formulărilor F17-F20 (cu toate bazele) și a formulărilor F1-F4 (cu Emolivan™). Cea mai ușoară creștere a hidratării s-a înregistrat pentru formulările (F13-F16) pe bază de Fitalite™.

Toate produsele au determinat scăderea gradului de pigmentare cutanată, dar cea mai drastică diminuare a conținutului de melanină a fost înregistrată pentru F1-F4. În același timp, cele mai inconstante rezultate au fost pentru F13-F16.

Eritemul cutanat scade drastic după aplicarea produselor dezvoltate. Desigur, comportamentul diferă între formulări. Cea mai importantă diminuare a parametrului a fost înregistrată pentru F1-F4, dar cea mai constantă pentru F17-F20. În același timp, formulările pe bază de Fitalite™ au înregistrat variații mai mari între determinări, alternând creșterea și scăderea nivelului eritemului.

În cazul formulărilor F1-F4, se observă o tendință de creștere a parametrilor de elasticitate în special după primele săptămâni de aplicare. Parametrul R2 prezintă valori crescute în săptămânile 1 și 2, sugerând o îmbunătățire a elasticității pielii. De asemenea, creșteri ale parametrului R5 indică o capacitate mai bună de revenire a pielii după deformare. Cu toate acestea, variațiile înregistrate pe parcursul perioadei de monitorizare indică o stabilitate moderată a efectului.

Formulările F5-F8 prezintă modificări moderate ale parametrilor biomecanici. În unele cazuri se observă creșteri ale parametrilor de elasticitate (R5 și R7), ceea ce sugerează o îmbunătățire a elasticității pielii după aplicare. Totuși, rezultatele prezintă fluctuații între săptămânile de evaluare, indicând o variabilitate individuală relativ mare.

Formulările F9-F12 determină de asemenea modificări semnificative ale parametrilor biomecanici ai pielii. În anumite cazuri se observă creșteri ale parametrului R2, ceea ce indică

o îmbunătățire a elasticității globale a pielii. De asemenea, creșterile parametrului R5 sugerează o capacitate mai bună de recuperare elastică după deformare.

Pentru formulările F17-F20, se remarcă unele dintre cele mai pronunțate creșteri ale parametrilor elastici, în special pentru R5 și R7, imediat după aplicare și în primele săptămâni de utilizare. Aceste rezultate sugerează că aceste formule poate contribui la îmbunătățirea elasticității pielii și la creșterea capacității de revenire după deformare.

Toate formulările determină o creștere graduală a valorilor medii pentru majoritatea voluntarilor pe parcursul perioadei de monitorizare. Aceste rezultate sugerează o îmbunătățire progresivă a proprietăților mecanice ale pielii, cu o influență favorabilă asupra fermității pielii și o bună menținere a efectului în timp. Dintre toate produsele, cele mai remarcabile rezultate s-au înregistrat pentru F17-F20.

Analiza rezultatelor obținute arată că aplicarea formulărilor testate determină, în majoritatea cazurilor, o tendință de reducere a valorilor TEWL pe parcursul perioadei de evaluare de patru săptămâni, sugerând o îmbunătățire a funcției de barieră a pielii.

În cazul formulărilor F1-F4, valorile inițiale ale TEWL prezintă variații între voluntari, unele valori fiind relativ ridicate. Pe parcursul perioadei de studiu se observă o scădere treptată a valorilor TEWL pentru majoritatea voluntarilor. De exemplu, pentru S2 valorile scad de la aproximativ 21.96 g/m²/h inițial la 18.4 g/m²/h în săptămâna a patra. De asemenea, pentru S5 se observă o reducere semnificativă a valorilor, de la aproximativ 19,84 la aproximativ 10,92 g/m²/h. Această tendință indică o îmbunătățire a funcției de barieră cutanată și o reducere a pierderii de apă prin epidermă.

Formulările F5-F8 prezintă, de asemenea, o reducere progresivă a valorilor TEWL în cazul majorității voluntarilor. De exemplu, pentru S6 valorile scad de la aproximativ 17,61 g/m²/h inițial la aproximativ 11,14 g/m²/h după patru săptămâni de aplicare. Pentru S7 se observă o scădere similară, de la aproximativ 18 g/m²/h la aproximativ 9.64 g/m²/h. Aceste rezultate sugerează o îmbunătățire semnificativă a funcției de barieră a pielii și o eficiență bună a formulărilor în reducerea pierderii transepidermice de apă.

În cazul formulărilor F9-F12, rezultatele indică o scădere moderată a valorilor TEWL pe parcursul perioadei de evaluare. De exemplu, pentru S13 valorile scad de la aproximativ 19.08 g/m²/h inițial la aproximativ 12.53 g/m²/h în săptămâna a patra. Pentru S15 se observă o reducere

importantă, de la aproximativ 18.59 g/m²/h la aproximativ 8.42 g/m²/h. Aceste rezultate sugerează o ameliorare a funcției de barieră cutanată și o reducere a evaporării apei la nivelul pielii.

Și formulările F13-F16 au redus TEWL de la valoarea inițială la aplicarea constantă pe parcursul a 28 de zile. Pentru toate probele, TEWL a scăzut chiar și imediat după prima aplicare, iar această tendință persistă, scăzând treptat în timp [17].

Formulările F17-F20 prezintă, în general, una dintre cele mai evidente reduceri ale valorilor TEWL la finalul perioadei de evaluare. De exemplu, pentru S23 valorile scad de la aproximativ 18.82 g/m²/h inițial la aproximativ 10.46 g/m²/h în săptămâna a patra. De asemenea, pentru S25 se observă o reducere semnificativă a valorilor, de la aproximativ 17.99 g/m²/h la aproximativ 9.3 g/m²/h. În cazul altor voluntari, valorile se stabilizează sau prezintă variații moderate pe parcursul perioadei de monitorizare.

În cazul formulărilor F1-F4, valorile parametrului S_{Er} prezintă variații moderate pe parcursul perioadei de studiu, însă pentru unii voluntari se observă o tendință de reducere a rugozității cutanate. De exemplu, pentru voluntarul S2 valorile S_{Er} scad de la aproximativ 2.19 inițial la aproximativ 1.93 în săptămâna a patra. Parametrul S_{Ew} prezintă de asemenea o tendință de reducere pentru toți voluntarii, indicând o posibilă diminuare a aspectului ridurilor. Parametrul S_{Esm} prezintă fluctuații, însă în unele cazuri se observă valori mai mari la finalul perioadei de evaluare, ceea ce poate sugera o îmbunătățire a netezimii pielii.

Formulările F5-F8 determină variații ale parametrilor microreliefului cutanat, însă în majoritatea cazurilor se observă o tendință de stabilizare sau reducere a valorilor asociate rugozității și ridurilor. De exemplu, pentru voluntarul S7, valorile S_{Er} scad comparativ cu valorile inițiale în, iar valorile S_{Ew} prezintă fluctuații moderate. În cazul altor voluntari se observă o îmbunătățire a parametrilor care caracterizează textura pielii, sugerând o influență favorabilă asupra microreliefului cutanat.

În cazul formulărilor F9-F12, rezultatele indică o reducere moderată a unor parametri asociați rugozității și ridurilor. De exemplu, valorile S_{Er} pentru S13 scad inițial după aplicare și prezintă variații moderate pe parcursul studiului. Parametrul S_{Ew} indică, în general, o tendință de stabilizare sau reducere spre finalul perioadei de evaluare, sugerând o posibilă ameliorare a aspectului ridurilor. De asemenea, valorile parametrului S_{Esm} indică variații care pot reflecta modificări ale gradului de netezime a pielii.

Formulările F13-F16 prezintă, în general, o tendință de îmbunătățire a unor parametri ai microreliefului cutanat. Se observă o reducere a valorilor SEr și SEw pe parcursul studiului, indicând o diminuare a rugozității și a aspectului ridurilor. Parametrul SEsm prezintă variații care sugerează o îmbunătățire a netezimii pielii, iar indicele de anisotropie indică o relativă uniformizare a structurii microreliefului cutanat.

Pentru formulările F17-F20 se poate observa că acestea influențează în mod favorabil textura pielii și parametrii microreliefului cutanat. Deși variațiile sunt diferite între voluntari, tendința generală indică o reducere a rugozității și a aspectului ridurilor, precum și o îmbunătățire a netezimii pielii după aplicarea formulărilor testate.

Concluzii și contribuții personale

Scopul central al tezei de doctorat s-a concentrat pe dezvoltarea unor produse topice fotoprotectoare care să conțină doar ingredient naturali de origine vegetală. Pentru atingerea acestui scop, s-au obținut inițial produse uleioase inovatoare care au fost ulterior încorporate în mai multe tipuri de baze.

Atât preparatele uleioase vegetale, cât și produsele cosmetice finale au fost caracterizate din punct de vedere fitochimic, fizico-chimic, farmacotehnic și biologic, finalizând cu testarea *in vivo* pe subiecți umani a formulărilor fotoprotectoare.

Teza de doctorat conține două părți distincte: **Partea generală** dedicată unei analize riguroase a literaturii de specialitate cu rolul de a sistematiza stadiul actual al cunoașterii în domeniu și de a consolida fundamentul științific necesar întregului demers investigativ și **Contribuțiile științifice proprii** care reprezintă nucleul original al tezei, această secțiune centralizează elementele metodologice aplicate, datele experimentale obținute, interpretarea și discutarea critică a acestora, finalizând cu deducerea concluziilor desprinse în urma studiilor.

Capitolul 1 al părții generale prezintă stadiul actual al tehnicii de obținere a produselor topice fotoprotectoare, de la soluții simple la sisteme de nanoparticule care sunt fie în uz, fie în curs de investigare. La formularea produselor topice fotoprotectoare se urmărește selectarea ingredientelor active, concentrația acestora, tipul de vehicul și forma farmaceutică astfel încât să fie garantată eficacitatea protecției solare. Scopul principal în formularea produselor de protecție solară moderne este dezvoltarea celui mai bun preparat care să îndeplinească obiectivele dorite: eficacitatea împotriva radiațiilor UV caracterizată prin factorul de protecție

solară (SPF), tipul de protecție (UVA, UVB sau spectru larg) și rezistența la apă. Produsele fotoprotectoare sunt sisteme emulsionate, soluții hidroalcoolice, sisteme anhidre sau geluri. Există o gamă largă de produse fotoprotectoare topice destinate aplicării pe diferite zone ale corpului: cap (păr, piele, părți sensibile ale feței: buze, nas, conturul ochilor), mâini, corp. Deoarece utilizarea nanoparticulelor de TiO_2 este permisă în formulările cosmetice, mai multe studii au încercat să mărească eficacitatea, să reducă potențialul de efecte secundare și să mărească complianța pentru aceste produse.

Capitolul 2 prezintă câteva constatări cheie din diferite studii preclinice și clinice privind efectele ingredientelor naturale asupra fotoprotecției pielii la nivel celular și molecular. Având în vedere toxicitatea filtrelor UV de sinteză, în ultimii ani, cercetările s-au axat pe găsirea unor alternative eficiente, netoxice pentru om și mediu. Cele mai multe studii au arătat că mecanismul primar al activității fotoprotectoare este capacitatea antioxidantă a diverșilor metaboliți secundari ai plantelor, care se realizează prin limitarea oxidării proteinelor, lipidelor, ADN-ului sau a altor molecule și prin împiedicarea fazei de propagare a reacțiilor oxidative în lanț. Metaboliții secundari ai plantelor, din punct de vedere structural, se împart în trei mari clase: antioxidanți, alcaloizi și uleiuri vegetale. Rezultatele numeroaselor studii clinice și preclinice justifică utilizarea plantelor medicinale și a extractelor acestora în produse fotoprotectoare și anti-îmbătrânire și deschid o nouă perspectivă pentru dezvoltarea unor astfel de produse.

Partea dedicată contribuțiilor științifice originale este structurată pe parcursul a șase capitole distincte. Structura și succesiunea lor logică au fost concepute special pentru a pune în valoare caracterul profund multidisciplinar al tuturor investigațiilor experimentale implementate.

În cadrul **Capitolului 3** este trasat cadrul conceptual al întregului, oferind o perspectivă clară asupra direcțiilor de studiu prin definirea ipotezei de lucru și structurarea obiectivelor generale și specifice ce guvernează succesiunea etapelor experimentale.

Capitolul 4 este dedicat metodologiei experimentale fiind dedicat descrierii sistematice a întregului flux de lucru experimental. Secțiunea asigură transparența și reproductibilitatea studiilor prin detalierea materiilor prime, protocoalelor tehnologice și metodelor optimizate pentru obținerea produselor uleioase, instrumentele și tehnicile utilizate în evaluarea parametrilor fizico-chimici și farmacotehnici ai produselor dezvoltate, formularea și prepararea produselor cosmetice, evaluarea calității și potențialului biologic al acestora.

Capitolul 5 a avut ca scop investigarea extractului de *Usnea barbata* (*U. barbata*) în ulei de jojoba (JO) îmbogățit cu 5% ulei de mentă (PEO) și 10% vitamina E, ca un potențial produs natural pentru aplicații cutanate. Compoziția fitochimică și proprietățile fizico-chimice susțin includerea UBPIO în diverse formulări de îngrijire a pielii. Proprietățile bioactive investigate susțin includerea UBPIO în diverse formulări de protecție a pielii cu efecte antioxidante, fotoprotectoare, antibacteriene și antifungice.

Capitolul 6 prezintă investigația cuprinzătoare a extractului de *Usnea barbata* în ulei de Karanja (KO). Extractul de lichen (UBKO) a fost obținut prin macerare la rece. Studiul sugerează că extractul de *U. barbata* în uleiul de Karanja ar putea fi utilizat pentru dezvoltarea de formulări farmaceutice cu efecte antimicrobiene și fotoprotectoare, cu potențiale aplicații pentru îngrijirea pielii.

Capitolul 7 prezintă investigarea și caracterizarea uleiului de nucă din punct de vedere fizico-chimic, structural și reologic. Rezultatele demonstrează că uleiul de nucă prezintă proprietăți fizico-chimice și structurale adecvate, susținând utilizarea sa ulterioară ca o potențială materie primă cosmetică.

O primă direcție a cercetării s-a axat pe prepararea extractelor uleioase de *Usnea barbata* în ulei de jojoba și ulei de Karanja prin macerare și obținerea uleiului de nucă prin presare la rece.

Studiile efectuate au elucidat compoziția chimică, proprietățile morfologice, spectrale, fizico-chimice, reologice și activitatea antioxidantă a JRO extras din semințe de nucă, evidențiind potențialul său ca materie primă cosmetică. Analiza GC-MS a arătat predominanța acizilor grași polinesaturați, în special a acidului linoleic, urmat de acidul α -linolenic. Analiza AFM a relevat o suprafață relativ netedă, cu o organizare eterogenă, aspecte specifice unui sistem lipidic fluid bogat în acizi grași nesaturați. Activitatea antioxidantă determinată prin metodele DPPH și ABTS a demonstrat o dependență de concentrație și timp pentru proba JRO. Efectul maxim a fost observat la o diluție de 1:5, indicând o concentrație optimă pentru eliminarea radicalilor liberi. La concentrații mari (diluții mici), activitatea antioxidantă a scăzut rapid în timp, sugerând o reducere rapidă a compușilor activi. În schimb, la concentrații mici (diluții mari), activitatea a fost mai stabilă, indicând o cinetică de reacție mai lentă și un consum treptat de antioxidanți. Per total, rezultatele evidențiază un echilibru între eficiența și stabilitate antioxidantă, influențat de compoziția chimică și organizarea structurală a sistemului lipidic. În

concluzie, uleiul de nucă presat la rece (JRO) prezintă proprietăți fizico-chimice și structurale adecvate pentru integrarea cosmetică. Deși conținutul de arseniu depășește ușor pragul pentru consumul alimentar, nivelurile sunt conforme cu cerințele de siguranță pentru produsele cosmetice topice. Acest lucru susține utilizarea sa ca ingredient natural și sustenabil în formulările de protecție solară și îngrijire a pielii, fără a compromite siguranța consumatorilor. Se poate observa că valoarea SPF găsită pentru proba JRO a fost de $32,93 \pm 1,65$ și a scăzut odată cu diluarea. Analiza SPF demonstrează eficiența uleiului de nucă pentru a fi utilizat ca materie primă cosmetică în formulările de protecție solară pentru a le oferi filtre UV.

În cazul extractului complex și original uleios de *U. barbata* în ulei de jojoba, îmbogățit cu 5% ulei esențial de mentă și 10% vitamina E, rezultatele obținute oferă perspective promițătoare pentru dezvoltarea ulterioară a formulărilor cosmetice multifuncționale bazate pe caracteristicile reologice. Stabilitatea oxidativă ridicată a extractului de lichen uleios poate asigura proprietăți de autoconservare satisfăcătoare în preparatele ulterioare de îngrijire a pielii. Rezultatele sugerează o sinergie între ingredientele active în cadrul tuturor activităților farmacologice evaluate. UBPIO oferă perspective promițătoare pentru dezvoltarea ulterioară a unor formulări multifuncționale care ar putea proteja pielea împotriva stresului oxidativ și a radiațiilor UV, ar putea menține hidratarea și ar putea susține sănătatea pielii prin proprietăți antioxidante și antimicrobiene.

Caracterizarea extractului de *Usnea barbata* în ulei de Karanja a relevat o creștere semnificativă a concentrației de TPC, fără modificări structural marcante, dar constituenții lichenului generează interacțiuni suplimentare care induc reorganizarea suprafeței, posibil prin formarea unor structuri nanometrice mai mici, crescând astfel rugozitatea suprafeței. Vâscozitatea dinamică aproape constantă sugerează că rezistența la curgere a UBKO este independentă de rata de forfecare, o caracteristică a fluidelor newtoniene. Rezultatele arată că UBKO a avut o stabilitate oxidativă puțin mai mare ($IP = 6,45$) decât KO ($IP = 6$). Eficacitățile antistafilococică și anti-candida ale UBKO sunt semnificativ mai mari decât cele ale KO. Mai mult, stimularea formării biofilmului KO la toți agenții patogeni la concentrația minimă inhibitorie ($MIC/4$) poate fi explicată. Toate rezultatele sugerează un potențial efect sinergic al triterpenoidelor și flavonoidelor, care ar putea reprezenta o nouă abordare pentru tratarea infecțiilor bacteriene.

Cea de-a doua direcție de cercetare s-a axat pe dezvoltarea unor produse cosmetice în care extractele uleioase sunt încorporate în diferite baze semisolide, evaluarea proprietăților farmaceutice și a capacității fotoprotectoare a preparatelor topice.

Au fost dezvoltate 20 de produse fotoprotectoare care conțin cafeină, silimarină, UBJO, UBKO și ulei de nucă încorporate în diferite baze. Au fost selectate patru baze: Emolivan™ (F1-F4), Versatile™ Rich (F5-F8), Nourivan™ Antiox (F9-F12), Fitalite™ (F13-16) și o combinație a tuturor celor patru în cantități egale (F17-F20). Glicerina (%) a fost utilizată pentru a dizolva cafeina. Toate cele patru baze topice sunt naturale, sigure și bine tolerate, fiecare cu caracteristici distincte: Emolivan™ este o bază cold-cream A/U, Versatile™ Rich este o bază vanishing cream hidrofilă de tip U/A, Nourivan™ Antiox este o cremă U/A, iar Fitalite™ este o bază de cremă gel (emulgel) hidrofilă.

Toate cele 20 de produse respectă această aciditate naturală, putând concluziona că niciuna dintre aceste creme nu va perturba bariera naturală a pielii. Toate formulările prezintă o capacitate de întindere corespunzătoare, extensibilitatea crescând odată cu creșterea masei aplicate. Preparatele se vor etala ușor pe piele. Evaluarea reologică a relevat un comportament pseudoplastic pentru toate cele 20 de produse dezvoltate.

Preparatele pe bază de Emolivan™ prezintă cele mai mari valori de SPF, F4 prezentând valoarea maximă înregistrată (SPF aproximativ 12). Opus, produsele cu Nourivan™ Antiox prezintă cele mai scăzute Valori ale SPF (aproximativ 7 pentru F9).

În ultima parte a studiului, s-au efectuat determinări *in vivo* pe voluntari umani, iar testările au fost efectuate cu dispozitivul Multi Probe Adapter MPA 6 fabricat de Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germania, folosind sondele acestuia pentru a determina: pH-ul (Skin-pH-Meter PH 905), gradul de hidratare (Corneometer® CM 825), conținutul de melanină și nivelul de eritem (Mexameter® MX 18), elasticitatea (Cutometer® Dual MPA 580), fermitatea (Indentometer IDM 80) și pierderea transepidermică de apă (cu Tewameter® TM Hex, Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germania). Topografia pielii a fost determinată prin analiza imaginilor cu Visioscan® VC 20plus, fabricat tot de Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germania.

Analiza integrată a rezultatelor obținute indică faptul că aplicarea formulărilor testate a determinat îmbunătățiri ale mai multor parametri cutanați pe parcursul perioadei de evaluare de patru săptămâni. Rezultatele obținute cu corneometrul au evidențiat o creștere a nivelului de

hidratare a pielii pentru majoritatea voluntarilor, sugerând capacitatea formulărilor de a favoriza retenția apei la nivelul stratului cornos. Acest efect este susținut și de rezultatele obținute prin determinările cu tewametrul, unde s-a observat în majoritatea cazurilor o reducere a valorilor pierderii transepidermice de apă. Scăderea valorilor TEWL indică o îmbunătățire a funcției de barieră a pielii și o reducere a evaporării apei din epidermă.

Rezultatele obținute prin cutometrie și indentometrie arată, de asemenea, o îmbunătățire a proprietăților mecanice ale pielii. Valorile parametrilor specifici elasticității și fermității cutanate au prezentat o tendință de creștere pe parcursul perioadei de aplicare a formulărilor, sugerând o îmbunătățire a tonusului și rezistenței mecanice a pielii. Aceste modificări pot fi corelate cu creșterea nivelului de hidratare și cu îmbunătățirea funcției de barieră cutanată, factori care influențează în mod direct proprietățile biomecanice ale pielii.

Determinările realizate cu mexametrul au arătat că formulările testate nu au determinat modificări semnificative ale pigmentării cutanate și nu au indus creșteri persistente ale eritemului. S-a observat chiar o tendință de reducere a valorilor eritemului la finalul perioadei de evaluare, ceea ce sugerează o bună tolerabilitate cutanată a preparatelor studiate și absența unor reacții iritative semnificative.

Analiza microreliefului cutanat realizată cu Visioscan a evidențiat o tendință de reducere a parametrilor asociați rugozității și aspectului ridurilor, concomitent cu o îmbunătățire a parametrilor care caracterizează netezimea pielii. Aceste rezultate indică o ameliorare a texturii cutanate și o uniformizare a suprafeței pielii după aplicarea formulărilor testate.

Corelând rezultatele obținute prin toate metodele instrumentale utilizate în cadrul studiului, se poate observa că îmbunătățirea hidratării pielii și reducerea pierderii transepidermice de apă contribuie la optimizarea funcției de barieră cutanată, ceea ce conduce ulterior la îmbunătățirea elasticității, fermității și aspectului general al pielii. De asemenea, modificările favorabile observate la nivelul microreliefului cutanat confirmă efectele benefice ale formulărilor asupra texturii pielii.

În ansamblu, rezultatele studiului indică faptul că formulările analizate prezintă un profil dermato-cosmetic favorabil, contribuind la îmbunătățirea hidratării, la consolidarea funcției de barieră cutanată, la creșterea elasticității și fermității pielii și la ameliorarea aspectului microreliefului cutanat, fără a induce efecte iritative semnificative. Aceste rezultate susțin

potențialul utilizării acestor formulări în dezvoltarea produselor dermato-cosmetice destinate îngrijirii și menținerii sănătății pielii.

Bibliografie

1. Dan MA, Fița AC, Nitulescu G, Ozon EA, Stancu E, Balta MD, Balaci T, Lupuliasa D, Popescu IA. Sunscreen topical products – from conventional to novel formulations. *Farmacia*, 72(3), 479-487, 2024.
2. Dan MA, Ozon EA, Hovaneț MV, Viziteu HM, Mitu MA, Popovici V, Lupuliasa D, Popescu IA. Natural sunscreens – a literature review. *Farmacia*, 72(2), 250-261, 2024.
3. Popovici V, Bucur L, Gîrd CE, Rambu D, Calcan SI, Cucolea EI, Costache T, Ungureanu-Iuga M, Oroian M, Mironeasa S, et al. Antioxidant, Cytotoxic, and Rheological Properties of Canola Oil Extract of *Usnea barbata* (L.) Weber Ex F.H. Wigg from Călimani Mountains, Romania. *Plants*, 11, 854, 2022.
4. Dan MA, Cioancă O, Popovici V, Musuc AM, Nițulescu GM, Anastasescu M, Ozon EA, Marinas IC, Guțu CM, Baconi DL, Udeanu DI, Hăncianu M, Șpac AF, Ungureanu AR, Lupuliasa D. Phytochemical Screening and Physicochemical Properties of Oil Extract of *Usnea barbata* L. F.H.Wigg from Călimani Mountains, Romania. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(4), 1903, 2026.
5. Lamuela-Raventós RM. Folin-Ciocalteu Method for the Measurement of Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity. In Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications; John Wiley & Sons Ltd, Bognor Regis, UK, 107–115, 2017
6. Hsieh CJ, Yen CH, Kuo MS. Determination of Trace Amounts of Arsenic(III) and Arsenic(V) in Drinking Water and Arsenic(III) Vapor in Air by Graphite-Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry Using 2,3-Dimercaptopropane-1-Sulfonate as a Complexing Agent. *Anal. Sci.*, 15, 669–673, 1999
7. Ungurianu A, Șeremet O, Gagniuc E, Olaru OT, Guțu C, Grădinaru D, Ionescu-Tîrgoviște C, Margină D, Dănciulescu-Miulescu R. Preclinical and Clinical Results Regarding the Effects of a Plant-Based Antidiabetic Formulation versus Well Established Antidiabetic Molecules. *Pharmacol. Res.*, 150, 104522, 2019

8. Margină D, Olaru OT, Ilie M, Grădinaru D, Guțu C, Voicu S, Dinischiotu A, Spandidos DA, Tsatsakis AM. Assessment of the Potential Health Benefits of Certain Total Extracts from *Vitis Vinifera*, *Aesculus Hyppocastanum* and *Curcuma Longa*. *Exp. Ther. Med.*, 10, 1681–1688, 2015
9. de Souza Mansur MJ, Breder MNR, Mansur MC, Azulay RD. Determinação Do Fator De Proteção Solar Por Espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, 61, 121–124, 1986
10. Ureña-Vacas I, González-Burgos E, Divakar PK, Gómez-Serranillos MP. Lichen Depsides and Tridepsides: Progress in Pharmacological Approaches. *J. Fungi*, 9, 116, 2023.
11. White P, Oliveira R, Oliveira A, Serafini M, Araújo A, Gelain D, Moreira J, Almeida J, Quintans J, Quintans-Junior L, et al. Antioxidant Activity and Mechanisms of Action of Natural Compounds Isolated from Lichens: A Systematic Review. *Molecules*, 19, 14496–14427, 2014
12. Food and Agriculture Organization, World Health Organization. General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (Codex Stan 193-1995). FAO, Rome, Italy, 1, 2015.
13. **Dan MA, Nedea MI, Ozon EA, Ungurianu A, Ungureanu AR, Popovici V, Musuc AM, Bratan V, Cazacincu RG, Arsene AL, et al. Antioxidant, Photoprotective, and Antimicrobial Potential of Oil Extract of *Usnea barbata* L. F.H.Wigg from Călimani Mountains, Romania. *Molecules*, 31(8), 1324, 2026**
14. Anwar F, Tariq M, Nisar J, Ali G, Kanwal H. Optimization of Biodiesel Yield from Non-Food Karanja Seed Oil: Characterization and Assessment of Fuel Properties. *Sustainable Chemistry for the Environment*, 3, 100035, 2023.
15. Food and Agriculture Organization, World Health Organization. General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (Codex Stan 193-1995). FAO, Rome, Italy, 1, 2015
16. **Hovaneț MV, Dan MA, Margină D, Ungurianu A, Musuc AM, Ozon EA, Bejenaru C, Rusu A, Anastasescu M, Bratan V, Guțu CM, Baconi DL, Lupuliasa D, Topor G. Evaluation of Antioxidant Activity and Physicochemical Characterization of Walnut (*Juglans regia* L.) Oil. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(10), 4390, 2026**

17. Pârvănescu R, Trandafirescu C, Musuc AM, Ozon EA, Culiță DC, Mitran RA, Stănciulescu CI, Șoica C. Comparative Physicochemical and Pharmacotechnical Evaluation of Three Topical Gel-Cream Formulations. *Gels*, 11(7), 532, 2025.