

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 1

OSREDNJA TEMA:
TRENDI
NA PODROČJU
KOZMETOLOGIJE





ODGOVORNI UREDNIK:
Borut Štrukelj

GLAVNA UREDNICA:
Nina Kočevar Glavač

GOSTUJOČI UREDNICI:
Mirjam Gosenca Matjaž
Alenka Zvonar Pobirk

UREDNIŠKI ODBOR:
Žiga Jakopin
Marjetka Korpar
Mitja Kos
Janja Marc
Anja Pišlar
Andrijana Tivadar
Matjaž Tuš
Tomaž Vovk
Alenka Zvonar Pobirk

IZDAJATELJSKI SVET:
Mateja Cvirn Novak
Mirjana Gašperlin
Alenka Karničar
Sara Kenda
Janez Mravljak
Helena Pavšar
Janez Toni

NASLOV UREDNIŠTVA /
ADDRESS OF THE EDITORIAL OFFICE:
Slovensko farmacevtsko društvo,
Dunajska 184a, 1000 Ljubljana
T.: +386 (01) 569 26 01
Transakcijski račun pri Novi LB d.d. Ljubljana:
02010-0016686585.

Brez pisnega dovoljenja uredništva Farmacevtskega vestnika so prepovedani reproduciranje, distribuiranje, javna priobčitev, predelava in kakršna koli druga uporaba avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnem koli obsegu in postopku kot tudi tiskanje in predelava elektronske oblike.

Izhaja petkrat letno.
Letna naročnina je 70 EUR.
Za tuje naročnike 100 US\$.

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM
Fotografija na naslovnici: Shutterstock
Naklada: 3.600 izvodov

Farmacevtski vestnik (Pharmaceutical Journal of Slovenia) is published 5 times a year by the Slovenian Pharmaceutical Society, Subscription rate in inland 70 EUR other countries US\$ 100.

Farmacevtski vestnik sofinancira Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna iz naslova razpisa za sofinanciranje domačih znanstvenih periodičnih publikacij.

Dragi kolegi in bralci Farmacevtskega vestnika,

prva številka v letu 2023 je kozmetološko obarvana in vas bo popejljala v svet dermokozmetičnih izdelkov, ki predstavljajo najhitreje rastoči segment kozmetične industrije. Razviti so z namenom, da podpirajo dolgoročno zdravje kože, njihovi učinki na kožo pa so znanstveno podprti.

Z dviganjem povprečne starosti populacije neprestano narašča tudi tržišče dermokozmetičnih izdelkov z »anti-age« učinkom, z vgrajenimi antioksidanti kot eno izmed vodilnih kategorij. UV-sevanje je nesporno najpomembnejši samostojni dejavnik, ki je odgovoren za (prezgodnje) fotostaranje kože ter za številne kožne bolezni. Za nevtralizacijo škodljivih učinkov radikalov je tako poleg uporabe dermokozmetičnih izdelkov z UV-filtri bistven dermalni nanos antioksidantov. Poleg tega potrošniki vse pogosteje zahtevajo tudi funkcionalne izdelke, katerih sestava je prilagojena njihovim potrebam in željam – govorimo o t. i. personalizirani kozmetiki. Proučevanju pomlajevalnih učinkov izvlečka brazilske kreše in stanju personalizirane kozmetike na slovenskem trgu sta posvečena dva izvirna znanstvena prispevka. Pregledni članki vas bodo nato najprej popeljali v svet antioksidantov in njihove pomembne vloge tako v kozmetiki kot v dermatologiji. Zaradi vse večje osveščenosti uporabnikov v ospredje prihaja tudi zavedanje o pomenu zaščite kože pred okoljskimi onesnaževali: v prispevku so predstavljeni škodljivi učinki slednjih na kožo ter različne strategije, s katerimi se lahko zoperstavimo vplivom onesnaženja na kožo s pomočjo kozmetike. Dermokozmetološke vsebine zaokrožujemo s pregledom učinkov CBD na kožo, zadnji članek pa je aktualna farmacevtska tema, ki predstavlja najnovejše izsledke s področja tarčnega zdravljenja kronične limfocitne levkemije z zaviralci fosfatidilinozitol 3-kinaze.

Upamo, da bo zimski številka Farmacevtskega vestnika zanimivo in uporabno čtivo. In ker smo ravno v času, ko narava vabi k aktivnostim na snegu, naj vas branje prispevkov spodbudi tudi k skrbi za svoje zdravje ob vestni uporabi zaščitnih krem, ki naj ne vsebujejo le UV-filtrov, temveč tudi (vsaj) antioksidante. Pa na nasmech ne pozabite, saj je smejalnim gubicam navkljub v njem pregovorno že pol zdravlja. Prava lepota pa se vedno skriva v srcu in sije na obrazu.

*Doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm., in
izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk, mag. farm., gostujoči urednici*

Prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm., odgovorni urednik



VSEBINA / CONTENT

IZVIRNI ZNANSTVENI ČLANKI – ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

- Katja Schoss, Nina Kočever Glavač
- 3 Izvleček brazilske kreše (*Acemella oleracea*) v pomlajevalni kozmetiki: senzorično vrednotenje testne in placebo emulzije
Extract of Brazilian cress (Acemella oleracea) in rejuvenating cosmetics: sensory evaluation of test and placebo emulsion
- Ajda Doler, Mirjana Gašperlin
- 10 Personalizirana kozmetika na slovenskem trgu
Personalised cosmetics on the slovenian market

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI – REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

- Ana Marolt, Janez Mravljak
- 20 Antioksidanti naravnega izvora v kozmetiki
Antioxidants of natural origin in cosmetics
- Katja Schoss, Janez Mravljak
- 28 Antioksidativni potencial rastlinskih izvlečkov, pridobljenih s subkritično vodo
Antioxidative potential of plant extracts obtained with subcritical water
- Katarina Bolko Seljak, Mirjana Gašperlin
- 39 Resveratrol v kozmetiki in dermatologiji
Resveratrol in skincare and dermatology
- Alenka Zvonar Pobirk, Mirjam Gosenca Matjaž
- 46 Kozmetični izdelki za zaščito kože pred okoljskimi onesnaževali
Anti-pollution cosmetic products
- Eva Tavčar
- 56 Kanabidiol (CBD) in koža
Cannabidiol (CBD) and the skin
- Damjan Avsec, Helena Podgornik, Matevž Škerget, Irena Mlinarič-Raščan
- 67 Tarčno zdravljenje kronične limfocitne levkemije z zaviralci fosfatidilinozitol 3-kinaze
Targeting phosphatidylinositol 3-kinase in chronic lymphocytic leukemia

75 NOVICE IZ SVETA FARMACIJE

IZVLEČEK BRAZILSKE KREŠE (*ACMELLA OLERACEA*) V POMLAJEVALNI KOZMETIKI: SENZORIČNO VREDNOTENJE TESTNE IN PLACEBO EMULZIJE EXTRACT OF BRAZILIAN CRESS (*ACMELLA OLERACEA*) IN REJUVENATING COSMETICS: SENSORY EVALUATION OF TEST AND PLACEBO EMULSION

AVTORICI / AUTHORS:

asist. Katja Schoss, mag. ind. farm.
izr. prof. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: katja.schoss@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Izrazite spremembe videza kože, vključno z nastankom gub kot najbolj očitnega znaka staranja kože, pomembno vplivajo na posameznikovo samozavest. Danes imamo zato na voljo pester izbor kozmetičnih izdelkov in posegov, ki izboljšajo videz zrele kože, kozmetološka znanost pa se intenzivno ukvarja tudi s kozmetično aktivnimi sestavinami rastlinskega izvora na tem področju. V raziskavi smo izdelali placebo in testno emulzijo z izvlečkom brazilske kreše (*Acmella oleracea*). Njuno delovanje smo ovrednotili na prostovoljcih z metodo hedonskega senzoričnega vrednotenja z učinkovitim testiranjem, pri čemer smo se osredotočili na vidne učinke zmanjšanja očesnih gub. Po dvomesečni uporabi emulzije z izvlečkom brazilske kreše se je stanje gub izboljšalo, vendar učinek ni bil statistično značilen.

KLJUČNE BESEDE:

Acmella oleracea, anti-age učinek, brazilska kreša, kozmetika

ABSTRACT

Distinct changes in the appearance of the skin, including the appearance of wrinkles as the most obvious sign of skin ageing, have a significant impact on an individual's self-esteem. Thus, we have a wide selection of cosmetic products and procedures on the market today that improve the appearance of mature skin or wrinkles, and cosmetic science also deals intensively with cosmetically active ingredients of plant origin in this area. In the research, we produced a placebo and a test emulsion with an extract of para cress (*Acmella oleracea*). We evaluated their performance on volunteers using the method of hedonic sensory evaluation with effective testing, focusing on the visible effects of reducing eye wrinkles. The emulsion with para cress extract showed an improved wrinkle condition after two months of use, however, the effect was not statistically significant.

KEY WORDS:

Acmella oleracea, anti-age effect, cosmetics, para cress



1 UVOD

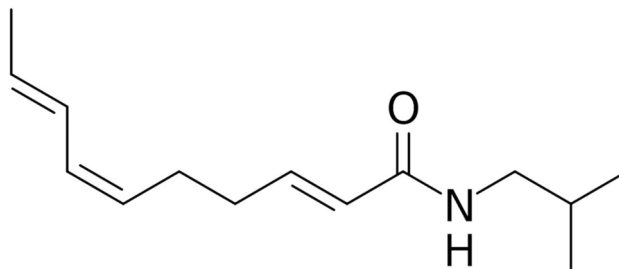
Koža je naš največji organ, ki opravlja barierno funkcijo zaščite pred zunanjimi dejavniki (fizikalna bariera med telesom in okoljem, preprečevanje izgube vode in elektrolitov, zaščita pred vdorom kemikalij in mikroorganizmov), termoregulacijsko in čutilno (vsebuje senzorične in avtonomne živce ter senzorične receptorje za zaznavanje dražljajev dotika, vibracij, pritiska, temperature, bolečine in srbenja) ter imunsko funkcijo. Po približno 25. letu se na koži začnejo pojavljati prvi znaki staranja, ki so posledica intrinzičnih (genetika, bolezn, hormoni, presnovni procesi itd.) ali ekstrinzičnih (UV-žarki, kajenje, temperaturne spremembe, nezdrava prehrana, prekomerno uživanje alkohola itd.) dejavnikov. S staranjem se procesi v koži upočasnijo. Koža se prične tanjšati, nagubanost bazalne membrane med usnjico (dermis) in povrhnjico (epidermis) se zmanjša, kar povzroči manjšo izmenjavo snovi iz usnjice v celice povrhnjice. Prve vidne spremembe zaradi staranja kože se pojavijo kot drobne linije oz. gube, navadno okoli oči, zlasti na lateralnem periorbitalnem delu očesa (1).

Za izboljšanje videza zrele kože ter za upočasnitev nadaljnega staranja kože pogosto uporabljamo kozmetične izdelke z vgrajenimi kozmetično aktivnimi sestavinami, kot so alfa-hidroksi kisline, antioksidanti, vlažila, retinoidi in UV-filtri. Možna je tudi uporaba bolj invazivnih lepotnih posegov, kot so injekcije toksina botulina in polnil (elastina, kolagena, hialuronske kisline) ter kemični, mehanski ali laserski pilingi. Čeprav so ti posegi učinkoviti, pa lahko povzročijo neželene

kožne reakcije, kot so draženje in rdečina kože, kontaktni dermatitis, podplutbe na mestu injiciranja, težave pri izgovorjavi, okužbe in oteklina tretiranih predelov kože. V kozmetološki znanosti je zato raziskovanje usmerjeno v iskanje in vrednotenje sestavin za aktivno nego zrele kože, ki izkazujejo visoko učinkovitost, hkrati pa ne povzročajo neželenih kožnih reakcij (2).

Ena izmed aktualnih sestavin za uporabo v kozmetičnih izdelkih proti staranju je izvleček brazilske kreše z INCI-imenom *Acmella Oleracea Extract* ali *Spilanthes Acmella Extract*. Brazilska kreša, *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen syn. *Spilanthes oleracea* L. (slika 1), spada v družino nebinovk (Asteraceae) in uspeva v vlažnih in toplih območjih tropskega in subtropskega pasu ter je pogosta rastlina tropskih gozdov južne Amerike. Liste in cvetove tradicionalno v prehrani uporabljajo kot začimbo, saj je zaradi ostrega okusa dober nadomestek pekočih vrst paprike. V tradicionalni medicini zunanje dele rastline uporabljajo kot anestetik za zdravljenje zobobola in bolečega grla, prav tako pa se pripravkov poslužujejo pri celjenju ran in revmatizmu zaradi protivnetnega delovanja (3). V znanstvenih raziskavah so podrobneje raziskali antipiretično (4), lokalno anestetično (4), protivnetno (5), antioksidativno (6, 7), vazorelaksantno (6), diuretično (8), imunostimulativno (9) in protimikrobno (10) delovanje izvlečkov brazilske kreše.

Učinkovine oz. kozmetično aktivne spojine, prisotne v rastlini, so lipofilni alkilamidi, natančneje amidi srednjeverzičnih polinenasičenih maščobnih kislin, ki so značilni tako za vrsto *A. oleracea* kot tudi za rod *Acmella*. Gre za v naravi redko prisotne derivate izobutilamina in maščobnih kislin z dvojnimi in trojnimi vezmi, identificirali pa so tudi derivate,



Slika 1: *Acmella oleracea* (levo; vir slike: iStock by Getty Images) in *spilanthol* (desno).
Figure 1: *Acmella oleracea* (left; photo: iStock by Getty Images) and *spilanthol* (right).

ki imajo modificiran takoaminski (npr. prisotnost aromatskega obroča) kot maščobni (npr. prisotnost epoksidnega obroča) strukturni del (10). Glavni alkilamid je spilantol (slika 1), ki je odgovoren za lokalne anestetične in protivnetne učinke rastline (3, 11, 12), deluje pa tudi kot pospeševalec penetracije (13) in skozi kožo dokazano prehaja tudi sam (14).

V okviru raziskave smo izdelali emulzijo za kozmetično uporabo z izvlečkom brazilske kreše ter z metodo hedonskega senzoričnega vrednotenja z učinkovitim testiranjem ovrednotili vidne pomlajevalne učinke (izboljšanje videza gub) na lateralnem periorbitalnem delu očesa prostovoljcev v primerjavi s placebo emulzijo brez vgrajenega izvlečka.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 SESTAVINE ZA IZDELAVO EMULZIJ

Demineralizirana voda (INCI: Aqua), Fakulteta za farmacijo; mandljevo olje (INCI: Prunus Amygdalus Dulcis Oil), Bacara Rose, Nemčija; karitejevo maslo (INCI: Butyrospermum Parkii Butter), Afrikahandel CSR Projekt, Nemčija; samoemulgirajoči glicerilstearat ali glicerilstearat SE (INCI: Glyceryl Stearate SE), Caesar & Lorentz, Nemčija; glicerol (INCI: Glycerin), Farmalabor, Italija; transparentni ksantan (INCI: Xanthan Gum), Alexmo Cosmetics, Nemčija; vitamin E (INCI: Tocopherol), Dragonspice, Nemčija; glicerilkaprilat (INCI: Glyceryl Caprylate), suhi izvleček brazilske kreše

(INCI: Acmella Oleracea Extract), Aliacura, Nemčija; 90 % mlečna kislina (INCI: Lactic Acid), Sigma-Aldrich, Nemčija; eterično olje sivke (INCI: Lavandula Angustifolia Oil), Behave, Nemčija.

2.2 IZDELAVA EMULZIJE

Razvoj emulzije (količina posameznega vzorca je znašala 50 g) je obsegal optimizacijo količin glicerilstearata SE (1–1,3 %), ksantana (0,2–0,4 %) in suhega izvlečka brazilske kreše (0–2 %), pri čemer smo osnovno fizikalno stabilnost preverjali s centrifugiranjem 30 min pri 3000 rpm/min. Končna sestava je podana v preglednici 1. Končno emulzijo smo izdelali po tehnološkem postopku metode v enem koraku ali *one-pot* metode, v količini 1,5 kg. V posodo vakuumskega homogenizatorja (Stephan UMC5; Stephan-machinery, Nemčija) smo dodali mandljevo olje, karitejevo maslo, glicerilstearat SE, glicerol, ksantan in predhodno pripravljen 2-odstotni vodni izvleček vodne kreše v primeru testne oz. demineralizirano vodo v primeru placebo emulzije. Zmes v homogenizatorju smo med mešanjem na srednjih obratih (1500 rpm/min) segreli na 70 °C, da so se lipofilne sestavine stalile, mešali 5 min pri največjih obratih (3000 rpm/min) ter nato ohladili na sobno temperaturo. Na koncu smo dodali vitamin E, eterično olje sivke in mlečno kislino (do pH 5,5) ter ponovno homogenizirali 5 min. Fizikalno stabilnost smo preverili s testom centrifugiranja (30 min, 3000 rpm), pri čemer ni smelo priti do razslojitve ali drugih vidnih sprememb testirane emulzije. Mikrobiološke kakovosti končne emulzije nismo ovrednotili, saj smo na podlagi rezultatov predhodnih protimikrobnih testiranj glicerilkaprilata (15) predpostavili, da bo za namene izvedbe

Preglednica 1: Sestava testne in placebo emulzije.

Table 1: Composition of test and placebo emulsions.

	Testna emulzija (% , m/m)	Placebo emulzija (% , m/m)
Mandljevo olje	10	10
Karitejevo maslo	5	5
Glicerilstearat	1,3	1,3
Glicerol	5	5
Ksantan	0,4	0,4
Vitamin E	1	1
Glicerilkaprilat	0,5	0,5
2-odstotna (m/m) vodna raztopina izvlečka brazilske kreše	76,8	/
Demineralizirana voda	/	76,8
Mlečna kislina	q.s.	
Eterično olje sivke	q.s.	



raziskave mikrobiološka stabilnost v dveh mesecih uporabe emulzije zadostna. Testno in placebo emulzijo smo napolnili v plastične vsebnike z volumnom 50 mL.

2.3 PROTOKOL RAZISKAVE IN VREDNOTENJE REZULTATOV

Raziskava je bila zasnovana kot kontrolirana raziskava senzoričnega vrednotenja s hedonsko metodo z učinkovitim testiranjem testne in placebo emulzije, pri čemer so bili prostovoljci seznanjeni s tem, kateri izdelek je testna in kateri placebo emulzija. Dvojnospelga načrta raziskave z izdelanima emulzijama nismo mogli izvesti, saj je izvleček brazilske kreše testno emulzijo obarval rahlo rjavkasto. V raziskavo je bilo vključenih 20 prostovoljcev (4 moški in 16 žensk), starih od 33 do 55 let, ki so bili seznanjeni s sestavo in navodili za uporabo emulzij, prav tako s pravicami in dolžnostmi, ki jih imajo kot prostovoljci, ter so podpisali informirani pristanek. Prostovoljci med uporabo emulzij niso smeli uporabljati drugih izdelkov za nego obraza, menjati dovoljenih vsakodnevni kozmetičnih izdelkov (ličila, izdelki za čiščenje) ter obiskovati tretmajev nege obraza v kozmetičnem salonu.

Dva meseca so si prostovoljci dvakrat dnevno (zjutraj in zvečer) na levo polovico obraza nanašali testno emulzijo z izvlečkom brazilske kreše, na desno polovico pa placebo emulzijo. Vsakemu prostovoljcu smo pred začetkom raziskave, po enem mesecu ter po dveh mesecih testiranja fotografirali desno in levo polovico ter frontalni del obraza. Vrednotili smo gube v predelu oči, in sicer na lateralnem periorbitalnem delu levega in desnega očesa.

Po končanem testiranju smo s pomočjo 68 neodvisnih ocenjevalcev, ki smo jih izbrali naključno in niso vedeli za praktično izvedbo raziskave, ovrednotili rezultate. Z opazovanjem fotografij prostovoljcev so ocenili, ali so se gube v predelu oči po enem oz. po dveh mesecih spremenile.

Fotografije smo naključno podali v parih: začetno stanje in stanje po enem mesecu ter začetno stanje in stanje po dveh mesecih, za levo in za desno stran obraza. Ocenjevalci so morali določiti, na kateri od dveh fotografij prepoznajo bolj izrazite gube; primer je podan na sliki 2. Rezultate ocenjevalcev smo statistično obdelali s programom Excel. Poleg opisanega neodvisnega ocenjevanja smo učinek emulzije ovrednotili tudi preko samoocenitvenih vprašalnikov po enem in dveh mesecih testiranja, kjer so prostovoljci podali lastno oceno o stanju vlažnosti, čvrstosti in gladkosti kože ter gub na levi in desni strani obraza z opisno petstopenjsko lestvico (zelo izboljšano, izboljšano, brez sprememb, poslabšano, zelo poslabšano). Prostovoljci so ocenili tudi lasten tip kože, kjer so imeli podanih šest različnih možnosti (suha, mastna, mešana, občutljiva, normalna, zrela) ter ovrednotili učinkovitost emulzije (štiristopenjska lestvica; zelo zadovoljen, zadovoljen, nezadovoljen, zelo nezadovoljen), vonj emulzije (petstopenjska lestvica; zelo dober, dober, sprejemljiv, slab, zelo slab) in konsistenco emulzije (petstopenjska lestvica; zelo dobra, dobra, sprejemljiva, slaba, zelo slaba).

3 REZULTATI

Rezultati senzoričnega vrednotenja vključujejo podatke 17 prostovoljcev (od 20, vključenih v raziskavo). Tri prostovoljke testiranja niso zaključile; dvema prostovoljkama emulzija ni ustrezala, eno prostovoljko pa smo izključili, saj emulzij deset dni ni uporabljala.

Prostovoljci so v sklopu samoocenitvenega vprašalnika podali lastno oceno o stanju vlažnosti, čvrstosti in gladkosti kože ter gub na levi in desni strani obraza po enem in po dveh mesecih uporabe emulzij. Navedli so tudi svoj tip kože

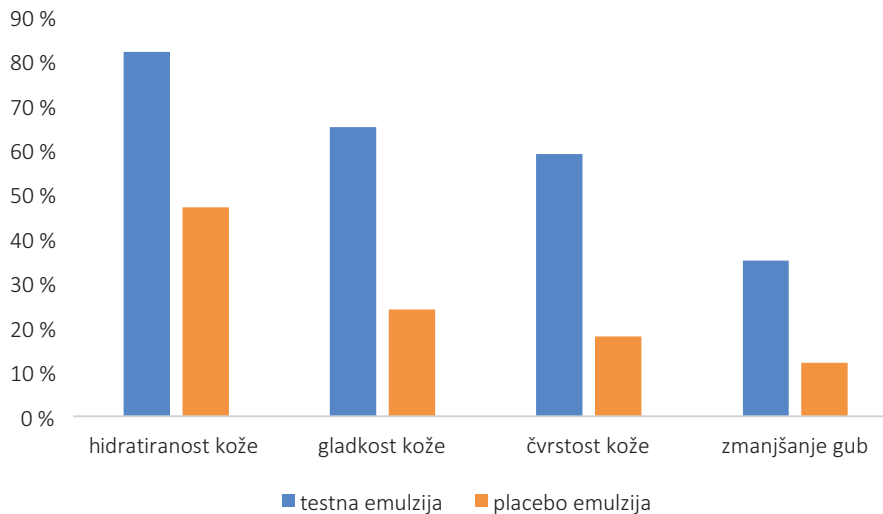


večje gube



Slika 2: Primer vrednotenja fotografij. Pod sliko je podano mnenje ocenjevalca, da so na levi sliki vidne večje gube.

Figure 2: Example of photo evaluation. Below the image, the evaluator's opinion is given that larger wrinkles are visible on the left photo.



Graf 1: Rezultati samoocenjevanja prostovoljcev testne in placebo emulzije po dveh mesecih uporabe.

Graph 1: Self-assessment results of volunteers of test and placebo emulsion after two months of use.

ter se opredelili do splošnih lastnosti proučevanih emulzij. Tako je 24 % prostovoljcev ocenilo, da sta emulziji premalo mastni, večinoma tisti s suho kožo. Prostovoljecem z mešano, normalno in mastno kožo sta emulziji ustrezali; 18 % jih je menilo, da se hitro vpijata v kožo, 71 % sta se zdeli ustrezno viskozni. Vonj je ustrezal 47 % prostovoljcev.

Po dveh mesecih uporabe testne emulzije je 82 % prostovoljcev ocenilo, da se jim je izboljšala hidratiranost kože, 65 % gladkost kože, 59 % čvrstost kože in 35 % prostovoljcev je opazilo zmanjšanje gub (graf 1). Pri placebo emulziji so bili deleži precej nižji, in sicer je 47 % prostovoljcev menilo, da se je izboljšala hidratiranost kože, 24 % se je izboljšala gladkost kože, 18 % se je izboljšala čvrstost in 12 % jih je opazilo zmanjšanje gub (graf 1).

Statistična obdelava podatkov, pridobljenih s pomočjo zunanjih ocenjevalcev, je pokazala ugoden učinek emulzije z vgrajenim izvlečkom brazilske kreše na izrazitost gub. Stanje gub po enem mesecu je 65 % ocenjevalcev ($p = 0,44$) ocenilo kot boljše, po dveh mesecih pa 73 % ocenjevalcev ($p = 0,15$), toda rezultat ni bil statistično značilen.

4 DISKUSIJA

Rezultati samoocenjevanja po dveh mesecih uporabe testne emulzije so pokazali pomembno izboljšanje vrednotenih parametrov za testno emulzijo v primerjavi s placebo emulzijo. Za testno emulzijo je približno trikrat več prostovoljcev

navedlo izboljšanje gladkosti in čvrstosti kože ter izrazitosti gub kot za placebo emulzijo, izboljšanje hidratiranosti kože pa je opazilo približno dvakrat več prostovoljcev. Poudariti moramo, da so prostovoljci vedeli, katera emulzija je testna in katera placebo, saj je bila testna emulzija zaradi izvlečka brazilske kreše drugačne barve. Dejavniki placeba je torej najverjetneje močno vplival na subjektivnost zaznavanja, kar je pričakovano (16).

Ugodne rezultate subjektivnega samoocenjevanja smo potrdili v drugem delu raziskave, kjer smo večjo objektivnost vrednotenja sprememb stanja kože zagotovili z neodvisnim ocenjevanjem s pomočjo zunanjih ocenjevalcev. Ti so potrdili izboljšanje stanja gub v predelu oči, vendar statistična obdelava ni pokazala statistične značilnosti rezultata.

Na podlagi rezultatov sklepamo, da je k videzu napete kože z manj izrazitimi gubami ključno prispevala povečana hidratiranost, kar se sklada z rezultati Choi in sod., ki so ugotovili, da je premalo hidrirana koža videti bolj nagubana (17).

Statistično značilnega učinka emulzije z vgrajenim izvlečkom brazilske kreše na stanje gub nismo uspeli dokazati, vendar bi to lahko bila tudi posledica omejitev raziskave, in sicer majhnega števila prostovoljcev (17 od 20 jih je zaključilo raziskavo), heterogenosti skupine prostovoljcev (velik razpon starosti, od 33 do 55 let, večje število žensk kot moških), nenadzorovanih dejavnikov med fotografiranjem prostovoljcev (osvetljenost, sproščenost obraza) ter razlik v količini emulzije, ki so jo posamezni prostovoljci porabili med testiranjem, ki jih nismo beležili.

Objavljene raziskave namreč dokazujejo značilne učinke izvlečka brazilske kreše na človeško in živalsko kožo. Savic



in sod. (11) so proučevali vpliv testne emulzije (seruma), ki je vsebovala 2 % vodno-propandiolnega izvlečka brazilske kreše (z deklarirano vsebnostjo vsaj 50 mg/L spilantola v izvlečku). Učinke so vrednotili s silikonskimi odlitki periorbitalnih in perioralnih regij obraza na osmih prostovoljcih. Preverjali so učinek seruma na globino gub, nato pa so učinke seruma primerjali z učinki kontrolne emulzije (kreme), ki je prav tako vsebovala 2 % izvlečka brazilske kreše. Na eno stran obraza so prostovoljci nanašali serum, na drugo stran obraza pa kremo. Ugotovili so statistično značilno razliko med osnovnim stanjem kože in globino gub po 14-dnevni uporabi seruma, statistične razlike med delovanjem seruma in kreme pa ni bilo. V raziskavi niso uporabili placeba.

V še dveh raziskavah so proučevali vpliv izvlečka brazilske kreše na stanje kože, niso pa bile izvedene na človeški, temveč na podganji koži. Moro in sod. (18) so proučevali celjenje rane po dermalnem nanosu mazila z 20 % suhega etanolnega izvlečka brazilske kreše. Z mikroskopsko preiskavo tkiv in kvantificiranjem hidrosiprolina so ugotovili večjo količino in boljše razporeditev kolagena na ranjenih področjih, tretiranih s testnim mazilom, kot na področjih, tretiranih s placebo mazilom. Yamane in sod. (19) so proučevali učinke izvlečka brazilske kreše in eteričnega olja macele (*Achyrocline satureioides*), vgrajenih v obliže za celjenje ran na podganah. S proučevanjem slik kožnih lezij in tkiv povrhnjice, usnjice in podkožja so ugotovili, da so se rane celile hitreje, obnovljena povrhnjica je bila debelejša, kolagen pa je bil v novem tkivu bolj enakomerno razporejen. Ker je podobno kot v primeru rane pri zreli koži povrhnjica tanjša in količina kolagena zmanjšana, hkrati pa je kolagen neenakomerno razporejen (2), je smiselna povezava z ugodnimi učinki izvlečka brazilske kreše tudi pri zreli koži. Izvleček brazilske kreše je tudi predmet patenta US 7,531,193 B2, kjer ga glede dermalnih učinkov primerjajo z učinki uporabe botoksa (20). V patentu je izpostavljen vpliv zmanjšanja gub preko zaviranja kontraktilne aktivnosti v mišicah obraza, vendar neposredne raziskave o takem učinku spilantola ali izvlečka brazilske kreše niso na voljo.

5 SKLEP

V okviru kozmetološke raziskave smo proučevali pomlajevalno delovanje testne emulzije z izvlečkom brazilske kreše, oglaševanim kot naravni botoks. Osredotočili smo se na vidne učinke zmanjšanja očesnih gub v primerjavi s placebo

emulzijo brez izvlečka. Rezultati samoocenjevanja prostovoljcev so pokazali izboljšanje hidratiranosti, gladkosti in čvrstosti kože ter izrazitosti gub, ki je bilo bolj izraženo pri testni emulziji. Rezultati neodvisnega ocenjevanja s pomočjo zunanjih ocenjevalcev so prav tako pokazali večje izboljšanje stanja gub pri emulziji z izvlečkom, ki pa ni bilo statistično značilno.

Na končne rezultate so lahko vplivale naslednje omejitve in pomanjkljivosti raziskave: nenadzorovani dejavniki med fotografiranjem prostovoljcev, kot sta osvetljenost in sproščenost obraza, razlike v količini emulzije, ki so jo posamezni prostovoljci porabili med testiranjem, heterogenost skupine in majhno število prostovoljcev.

Kakovost raziskave bi lahko nadgradili z uporabo instrumentalnih metod, kot so meritve hidratacije in reliefa kože, ki so za razliko od metodologije subjektivnega ocenjevanja, na kateri je temeljila naša raziskava, znanstveno relevantnejše. Menimo pa, da je za načrtovanje tovrstnih kozmetoloških raziskav ključnega pomena opredelitev končnega cilja oz. namena. Če želimo primarno vrednotiti tiste kozmetične učinke, ki so pomembni z vidika končnega uporabnika, sta osredotočenost na vizualno opazne učinke in izvedba hedonskega senzoričnega vrednotenja z efektivnimi testi ustrezni izbiri.

6 ZAHVALA

Raziskovalno delo je bilo izvedeno v sklopu projekta Mladi raziskovalci za razvoj šaleške doline. Avtorici se zahvaljujemo Katarini Grazer, Evi Hudournik in Lari Goršek za izvedbo laboratorijskega dela, fotografiranja prostovoljcev in zbiranja podatkov, mag. kem. teh. Karmen Grabant za mentorsko delo ter prof. dr. Samu Kreftu za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

7 LITERATURA

1. Khavkin J, Ellis DAF. *Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology*. Vol. 19, *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. Elsevier; 2011. p. 229–34.
2. Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. *Skin anti-aging strategies*. Vol. 4, *Dermato-Endocrinology*. Taylor & Francis; 2012. p. 308.

3. Stein R, Berger M, Santana de Cecco B, Mallmann LP, Terraciano PB, Driemeier D, et al. Chymase inhibition: A key factor in the anti-inflammatory activity of ethanolic extracts and spilanthol isolated from *Acmella oleracea*. *J Ethnopharmacol*. 2021 Apr 24;270.
4. Rahim RA, Jayusman PA, Muhammad N, Mohamed N, Lim V, Ahmad NH, et al. Potential antioxidant and anti-inflammatory effects of *Spilanthes acmella* and its health beneficial effects: A review. Vol. 18, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI AG; 2021.
5. Chakraborty A, Devi RKB, Rita S, Sharatchandra K, Singh TI. Preliminary studies on antiinflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models. *Indian J Pharmacol*. 2004;36(3):148–50.
6. Wongsawatkul O, Prachayasittikul S, Isarankura-Na-Ayudhya C, Satayavivad J, Ruchirawat S, Prachayasittikul V. Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes acmella* Murr. *Int J Mol Sci*. 2008 Dec;9(12):2724–44.
7. Prachayasittikul S, Suphapong S, Worachartcheewan A, Lawung R, Ruchirawat S, Prachayasittikul V. Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. *Molecules*. 2009 Feb;14(2):850–67.
8. Ratnasooriya WD, Pieris KPP, Samaratunga U, Jayakody JRAC. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *J Ethnopharmacol*. 2004 Apr;91(2–3):317–20.
9. Savadi R V, Yadav R, Yadav N. Study on immunomodulatory activity of ethanolic extract of *Spilanthes acmella* Murr. leaves. *Indian J Nat Prod Resour*. 2010;1(2):204–7.
10. Savic S, Petrovic S, Savic S, Cekic N. Identification and photostability of N-alkylamides from *Acmella oleracea* extract. *J Pharm Biomed Anal*. 2021 Feb 20;195:113819.
11. Savic SM, Cekic ND, Savic SR, Ilic TM, Savic SD. 'All-natural' anti-wrinkle emulsion serum with *Acmella oleracea* extract: A design of experiments (DoE) formulation approach, rheology and in vivo skin performance/efficacy evaluation. *Int J Cosmet Sci*. 2021 Oct 1;43(5):530–46.
12. Dallazen JL, Maria-Ferreira D, da Luz BB, Nascimento AM, Cipriani TR, de Souza LM, et al. Pharmacological potential of alkylamides from *Acmella oleracea* flowers and synthetic isobutylalkyl amide to treat inflammatory pain. *Inflammopharmacology*. 2020 Feb 1;28(1):175–86.
13. De Spiegeleer B, Boonen J, Malysheva S V., Mavungu JD Di, De Saeger S, Roche N, et al. Skin penetration enhancing properties of the plant N-alkylamide spilanthol. *J Ethnopharmacol*. 2013 Jun 21;148(1):117–25.
14. Boonen J, Baert B, Roche N, Burvenich C, De Spiegeleer B. Transdermal behaviour of the N-alkylamide spilanthol (affinin) from *Spilanthes acmella* (Compositae) extracts. *J Ethnopharmacol*. 2010 Jan 8;127(1):77–84.
15. Kočevar Glavač N, Lunder M. Preservative efficacy of selected antimicrobials of natural origin in a cosmetic emulsion. *Int J Cosmet Sci*. 2018 Jun 1;40(3):276–84.
16. Anderson S, Stebbins GT. Determinants of placebo effects. In: *International Review of Neurobiology*. *Int Rev Neurobiol*; 2020. p. 27–47.
17. Choi JW, Kwon SH, Huh CH, Park KC, Youn SW. The influences of skin visco-elasticity, hydration level and aging on the formation of wrinkles: A comprehensive and objective approach. *Ski Res Technol*. 2013 Feb;19(1).
18. Moro SD de S, de Oliveira Fujiji L, Teodoro LFR, Frauz K, Mazoni AF, Esquisatto MAM, et al. *Acmella oleracea* extract increases collagen content and organization in partially transected tendons. *Microsc Res Tech*. 2021 Nov 1;84(11):2588–97.
19. Yamane LT, De Paula E, Jorge MP, De Freitas-Blanco VS, Junior ÍM, Figueira GM, et al. *Acmella oleracea* and *Achyrocline satureioides* as Sources of Natural Products in Topical Wound Care. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2016;2016.
20. Dermene F, Passaro G. Use of an *Acmella oleracea* extract for the botulinum toxin-like effect thereof in an anti-wrinkle cosmetic composition. Vol. 2, *Google Patents*. 2009. p. 1–6.



PERSONALIZIRANA KOZMETIKA NA SLOVENSKEM TRGU

PERSONALISED COSMETICS ON THE SLOVENIAN MARKET

AVTORICI / AUTHORS:

Ajda Doler, dipl. kozmet.
prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: mirjana.gasperlin@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

1.1 PERSONALIZACIJA V KOZMETKI

Personalizirani izdelki prepoznavajo potrebe posameznega potrošnika na podlagi njegovih osebnih podatkov in informacij o nakupnih preferencah. Z vključitvijo potrošnika v proces ustvarjanja izdelka se le-ta počuti kot izključni ali prednostni prejemnik, kar je ugodno, saj si potrošniki želimo izdelkov, ki so prilagojeni našim željam, okusom, potrebam in življenjskemu slogu (1). Personalizirani izdelki imajo pogosto višjo ceno, povečujejo zvestobo in zadovoljstvo potrošnikov ter prepoznavnost izdelkov, zaradi interakcije

POVZETEK

Personalizirana kozmetika je razvijajoči se trend v kozmetični industriji in vključuje personalizacijo formulacije (sestavin, teksture, dišav) ali ovojnine. Izdelava in razvoj personalizirane kozmetike temeljita na uporabi sodobnih tehnologij, predvsem umetne inteligence. Pomembni koraki v izdelavi personaliziranih kozmetičnih izdelkov so pridobivanje podatkov o potrošniku, analiza pridobljenih podatkov ter izdelava in dostava končnega izdelka do potrošnika. Za razliko od klasičnih je v primeru personaliziranih kozmetičnih izdelkov potrošnik zelo pomemben člen že v koraku izdelave izdelka. V članku smo raziskali, kako je personalizirana kozmetika zastopana na slovenskem trgu. Analizirali smo 67 personaliziranih kozmetičnih izdelkov in ugotovili, da ima največ v Sloveniji dostopnih izdelkov personalizirano sestavo. Največ je personaliziranih izdelkov za nego kože, ki so v povprečju tudi najdražji. V največ primerih proizvajalci pridobijo podatke od potrošnikov z uporabo spletne ankete in jih nato analizirajo z uporabo algoritmov. Večina personaliziranih kozmetičnih izdelkov pa je izdelana v klasičnem proizvodnem obratu.

KLJUČNE BESEDE:

personalizacija, personalizirana kozmetika, potrošnik, slovenski trg, umetna inteligenca

ABSTRACT

Personalized cosmetics are a developing trend in the cosmetics industry and may include a personalised formulation (ingredients, textures, fragrances) or packaging. The production and development of personalised cosmetics are based on the use of modern technologies, especially artificial intelligence. Important steps in the production of personalised cosmetic products are obtaining data about the consumer, the analysis of the obtained data, and the production and delivery of a final product to the consumer. Unlike conventional cosmetics, in the case of personalised cosmetic products, the consumer is a very important element already in the product manufacturing step. In this article, we researched how personalised cosmetics are represented on the Slovenian market. We analysed 67 personalised cosmetic products and found that in Slovenia, the most accessible personalised products have a personalised formulation. Among per-

sonalised products, most of them are skin care products, which are also the most expensive on average. In most cases, manufacturers obtain data from consumers using an online survey, which is most often analysed using algorithms. The majority of personalised cosmetic products are made in a classic production facility.

KEY WORDS:

artificial intelligence, consumer, personalisation, personalised cosmetics, Slovenian market

med potrošnikom in proizvajalcem pa je boljša tudi odzivnost potrošnikov. Slabosti personalizacije so visoke investicije v tehnologijo in izobraževanje, večje tveganje glede kršenja zasebnosti potrošnikov, dodatni čas in stroški potrošnikov za nakup, daljši čas proizvodnje itd. (2).

Koncept personalizacije od pridobivanja podatkov do izdelave končnih izdelkov je omogočila industrija 4.0 ali 4. industrijska revolucija. Zanje je značilna povečana avtomatizacija ter uporaba pametnih strojev in tovarn, kar pripomore k učinkovitejši proizvodnji v celotni vrednostni verigi. Nove tehnologije, ki povezujejo fizične materiale, lokacije in stroje z biološkimi procesi, človeško filozofijo in psihologijo, omogočajo, da so različna področja sposobna med seboj komunicirati na inteligen način (3).

Personalizacija je razvijajoči se trend tudi v kozmetični industriji. Razlogov za to je več. Prvi je ta, da se posamezniki razlikujemo v genetskih značilnostih. Strukturne in fiziološke značilnosti kože ene rase so npr. drugačne kot pri drugi rasi, kar se kaže tudi v tem, da koža na okoljske dejavnike odraža z različnimi molekularnimi in fiziološkimi odzivi. To nadalje pomeni različne zahteve glede uporabe ustreznih kozmetičnih izdelkov (4). Drugi razlog je ta, da posameznik najbolje pozna svojo kožo, zato se je razvila potreba po tem, da proizvajalci aktivneje vključijo potrošnike v proces izdelave kozmetičnih izdelkov (5). Tretji razlog je, da si potrošnik za določeno ceno želi dobiti izdelek, ki bo imel želen učinek, namen personalizirane kozmetike pa je ravno ta, da potrošnik dobi unikaten izdelek, ki je bolj učinkovit, kot so standardni izdelki s polic (6). Personaliziran pristop, ki bi temeljil na posnetih profilih ter modeliranju edinstvenih značilnosti posameznikove kože *in silico* (npr. strukturne in biometrične meritve, dermalni/epidermalni biomarkerji, hormonski in stresni odziv), pa bi lahko v prihodnosti omogočil tudi učinkovitejše in cenovno ugodno zdravljenje mnogih kožnih stanj (4).

Personalizirana kozmetika lahko vključuje personalizacijo formulacije (sestavin, teksture izdelka, dišav) ali ovojnine,

personalizirane pa so lahko različne vrste kozmetičnih izdelkov, kot so izdelki za nego kože, izdelki za lase, ličila, izdelki za nohte itd. (5).

1.2 IZDELAVA PERSONALIZIRANIH KOZMETIČNIH IZDELKOV

Splošen proces izdelave kozmetičnega izdelka je sestavljen iz več korakov. V prvi fazi poteka konceptualizacija izdelka. Proizvajalec si zamisli vizijo izdelka, marketinška ekipa pa naredi pregled trga. Nato se z multidisciplinarnim pristopom sestavi osnovna formulacija in izbere ovojna končnega izdelka. V drugi fazi se izdelek dokončno formulira, izdelava in napolni v ustrezno embalažo. Izvedejo se testi stabilnosti, preskušanje varnosti ter senzorična testiranja. V tretji fazi sledi razširitev serije in masovna proizvodnja izdelka ter zagotovitev skladnosti z regulatornimi zahtevami, to je z Uredbo o kozmetičnih izdelkih št. 1223/2009 evropskega parlamenta in sveta ter prigrasitev pri CPNP (*Cosmetic Products Notification Portal*). Zadnji korak pa je promocija izdelka (7, 8). V procesu izdelave personaliziranih kozmetičnih izdelkov določene faze potekajo drugače ali pa so prisotni še dodatni koraki, kot so pridobivanje podatkov o potrošniku, analiza pridobljenih podatkov ter na podlagi tega modifikacija izdelave izdelka in dostava končnega izdelka do potrošnika. Čeprav uredba izrecno ne obravnava personaliziranih kozmetičnih izdelkov, morajo biti skladni z njo in izpolnjevati pogoje glede na definicijo kozmetičnega izdelka (snov ali pripravek, ki prihaja v stik z zunanjimi deli človeškega telesa in ga uporabljamo z namenom, da te dele telesa očisti, odišavi, zaščiti, jih ohrani v dobrem stanju, spremeni njihov videz ali odpravi neprijeten vonj) (6).

1.2.1 Pridobivanje podatkov o potrošniku

Do podatkov o potrošniku (o njegovih željah, potrebah itd.) lahko proizvajalci pridejo na različne načine (9):

a) Posvet s strokovnjakom:

Strokovnjak se lahko s posameznikom pogovori ali pa mu z uporabo različnih naprav izmeri lastnosti kože ali las (10).

b) Spletni vprašalniki:

To je eden izmed najpogostejših načinov pridobivanja podatkov, ki omogoča, da potrošnik vse potrebno za personalizacijo kozmetičnega izdelka opravi kar od doma. Potrošnik na spletu izpolni vprašalnik o svojih navadah, življenjskem slogu, željah, potrebah itd.

c) Aplikacije:

Na voljo so številne aplikacije, ki prav tako kot spletni vprašalniki omogočajo, da potrošniku ni treba zapustiti



svojega doma. Večina teh aplikacij za delovanje izkorišča umetno inteligenco (*artificial intelligence*) ali obogateno resničnost (*augmented reality*), ki je izboljšana različica resničnega fizičnega sveta, dosežena z uporabo digitalnih vizualnih elementov, zvoka ali drugih senzoričnih dražljajev, ki jih prinaša tehnologija. Primer aplikacije, ki izkorišča umetno inteligenco: potrošnik fotografira svoj obraz, aplikacija nato omogoči analizo kože na fotografiji in kot rezultat analize potrošniku pripravi priporočilo za kozmetične izdelke. Aplikacija z obogateno resničnostjo pa omogoča, da potrošnik virtualno preizkusi kozmetični izdelek (najpogosteje ličila) in se tako lažje odloči, kateri odtenki se ujemajo s tenom njegove kože oz. kateri mu najbolj ustrezajo (11).

d) Drugi načini, ki omogočajo zbiranje potrebnih informacij o potrošniku.

1.2.2 Analiza pridobljenih podatkov

Analizo podatkov izvedejo s posebno programsko opremo, ki temelji na principu algoritmov. Ti na podlagi informacij, ki so shranjene v podatkovnih bazah proizvajalca, sestavijo formulacijo, ki naj bi statistično gledano najbolj verjetno prinesla želene rezultate za specifičnega potrošnika (11). Obstaja več vrst tovrstne programske opreme in poslovna odločitev posameznih proizvajalcev je, za katero se odločijo.

1.2.3 Izdelava in dostava kozmetičnega izdelka do potrošnika

Ko na podlagi analiziranih podatkov določijo formulacijo kozmetičnega izdelka, prideta na vrsto še njegova izdelava in dostava do potrošnika, kar je odvisno od tega, kje in kako je kozmetični izdelek izdelan. Personalizirani kozmetični izdelki so lahko izdelani na več načinov (6):

a) Izdelava v klasičnem proizvodnem obratu:

To je eden izmed najpogostejših načinov. V tem primeru potrošnik vse potrebne podatke proizvajalcu posreduje prek spleta, kozmetični izdelek pa nato izdelajo v proizvodnem obratu in pošljejo potrošniku na dom.

b) Izdelava v maloprodajnih trgovinah:

Maloprodajne trgovine ponujajo možnost izdelave kozmetičnega izdelka na mestu nakupa, z za to namenjenimi napravami ali primerno usposobljenim osebjem.

c) Izdelava z mešalnimi napravami, ki jih pošljejo potrošniku na dom ob nakupu izdelka (v nadaljevanju: domače mešalne naprave):

Te naprave v razmerju, ki je najbolj primerno za uporabnika, zmešajo vsebino različnih kartuš, ki vsebujejo osnovno formulacijo in izbrane sestavine. Osnovno formulo

in koncentracije za mešanje določijo na podlagi potrošnikovih podatkov in jih oblikujejo, preden napravo ter kartuše pošljejo potrošniku na dom.

d) Dodajanje kozmetično aktivnih sestavin ali ojačevalcev (*boosters*) k redno uporabljanim kozmetičnim izdelkom: Personalizacijo pa lahko dosežemo tudi z dodajanjem kozmetično aktivnih sestavin ali ojačevalcev k redno uporabljanim kozmetičnim izdelkom. Pri tem je treba paziti na to, da sta osnova in aktivna sestavina oz. ojačevalec kompatibilna.

1.3 VELIKOST TRGA PERSONALIZIRANE KOZMETIKE

Leta 2021 je bila velikost svetovnega trga personalizirane kozmetike ocenjena na 41,9 milijarde ameriških dolarjev, do leta 2030 pa naj bi se prihodki povečali na 143,6 milijarde dolarjev. Območno gledano je leta 2021 s 45-odstotnim deležem na svetovnem trgu personalizirane kozmetike prevladovala Evropa. Razlogov za rast trga je več: velika kompetitivnost kozmetične industrije in želja podjetij, da bi se razlikovala od konkurence; večanje ozaveščenosti o personalizirani kozmetiki in naklonjenost za nakup le-te med potrošniki; naraščajoče tehnološke inovacije v proizvodnji; hiter razvoj genomske znanosti za proučevanje genetike in značilnosti posameznika idr. (12).

Nenazadnje je na rast trga pozitivno vplivala tudi pandemija covid-19, ko so se zaradi zdravstvenih ukrepov razširile spletne dejavnosti. S povečanjem internetnega nakupovanja je postala stopnja komunikacije med proizvajalci in potrošniki aktivnejša, kar je izboljšalo pogoje za izdelavo personalizirane kozmetike (13). Za obdobje do leta 2030 na svetovnem trgu personalizirane kozmetike napovedujejo, da bodo največ prihodkov imeli kozmetični izdelki za nego kože, ki jim bodo sledili izdelki za lase, nato ličila, dišave in nazadnje še drugi (12). Stanje personalizirane kozmetike na slovenskem trgu še ni poznano, zato tudi napovedi o tržnem deležu niso možne.

2 NAMEN DELA

Namen raziskave je oceniti, kako je personalizirana kozmetika zastopana na slovenskem trgu. Z uporabo spletnega iskalnika bomo naredili pregled personaliziranih kozmetičnih izdelkov in jih analizirali.

3 MATERIALI IN METODE

V spletni iskalnik Google smo vnesli pet ključnih besed: »personalizirana kozmetika«, »personaliziran kozmetični izdelek«, »personalized cosmetics«, »personalized beauty« in »custom beauty product«. Izmed dobljenih zadetkov smo najprej izločili tiste, ki niso prikazovali dejanskih kozmetičnih izdelkov, ampak so samo opisovali izbrano besedo v okviru članka ali raziskave. Naknadno smo izločili še vse zadetke, ki:

- so nas pripeljali do blogov, v katerem je bil predstavljen nek personaliziran izdelek;
- so predstavljali personalizirane izdelke, ki niso bili dostopni na slovenskem trgu;
- so predstavljali personalizirane izdelke, ki se prodajajo samo podjetjem, ne pa tudi posameznikom.

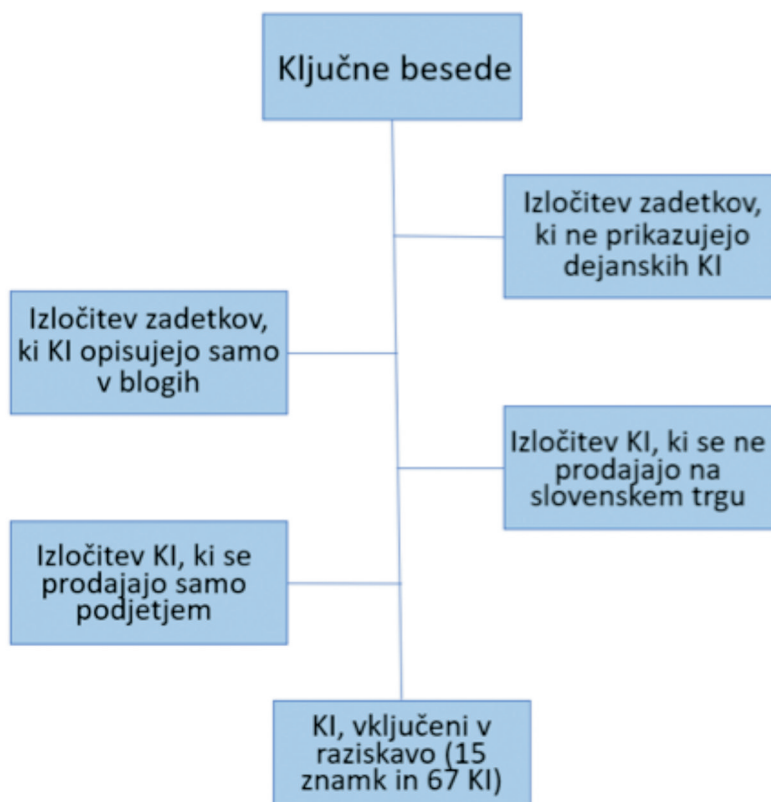
Proces izbora personaliziranih kozmetičnih izdelkov je predstavljen na sliki 1.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

V spletnem iskalniku Google smo do sredine junija 2022 za vsako izbrano ključno besedo dobili ogromno število zadetkov, kar prikazuje preglednica 1 in dokazuje priljubljenost tovrstnih izdelkov.

*Preglednica 1: Število zadetkov za posamezno ključno besedo.
Table 1: The number of hits for each keyword.*

Ključna beseda	Število zadetkov
Personalizirana kozmetika	757.000
Personaliziran kozmetični izdelek	40.200
Personalized cosmetics	53.100.00
Personalized beauty	324.000.000
Custom beauty product	264.000.000



*Slika 1: Proces izbora personaliziranih kozmetičnih izdelkov (KI).
Figure 1: Process of selecting personalised cosmetic products (KI).*

Dobljenih zadetkov je bilo po pričakovanju zelo veliko. S pregledom zadetkov smo prenehali, ko se po desetih zaporednih straneh niso več pojavljali fizični kozmetični izdelki. Po izločitvi vseh zadetkov, ki niso ustrezali vključitvenim kriterijem (slika 1), smo v nadaljnjo raziskavo vključili 15 kozmetičnih znamk, ki skupno omogočajo personalizacijo 67 kozmetičnih izdelkov oz. paketov izdelkov.

4.1 ANALIZA GLEDE NA VRSTO PERSONALIZACIJE

Izbrane kozmetične izdelke, razdeljene glede na vrsto personalizacije (formulacija, ovojnina ali oboje), prikazuje slika 2.

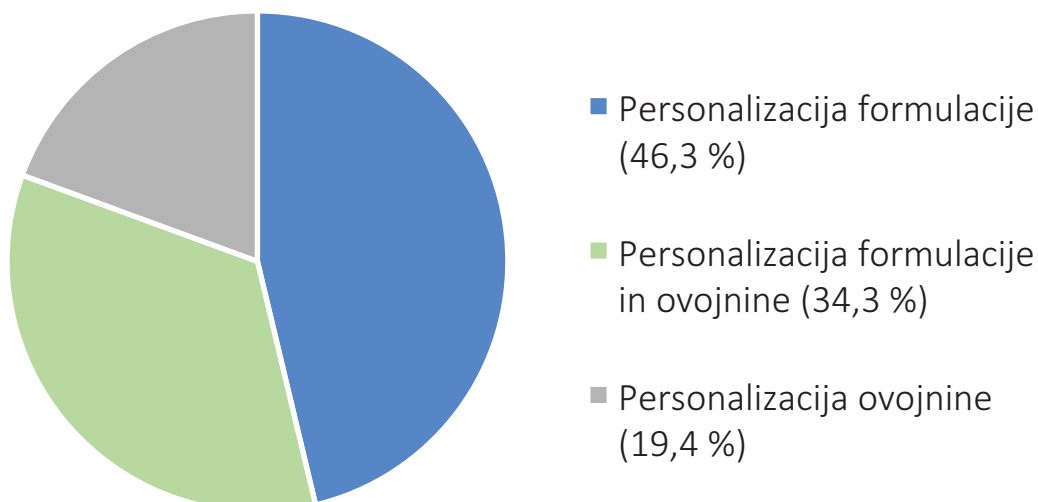
Večina vključenih kozmetičnih izdelkov je imela personalizirano formulacijo (46,3 %), sledili so takšni, ki so imeli personalizirano formulacijo in ovojnino hkrati (34,3 %), najmanj pa je bilo izdelkov, ki so imeli personalizirano samo ovojnino (19,4 %). Personalizacija formulacije je zapleten proces, ki zahteva znanja različnih znanosti, kot so dermatologija, kozmetologija, kemija, biologija, tehnologija, podatkovna znanost itd., kar pomeni, da proizvajalci v fazo razvoja izdelka vložijo veliko časa in denarja, kar se naj bi jim čez čas obrestovalo. Nasprotno personalizacija ovojnine, ki pomeni dodatek imena potrošnika, ne zahteva prej omenjenih znanj in toliko finančnih sredstev, proizvajalcem pa vseeno omogoča, da ima njihov izdelek dodano vrednost.

4.2 ANALIZA GLEDE NA NAMEN UPORABE

Personalizirane kozmetične izdelke smo nato razdelili glede na namen uporabe oz. njihovo funkcijo, pri čemer smo upoštevali naslednjo splošno razdelitev (14):

- izdelki za nego obraza: vlažilne kreme, kreme za nego kože okoli oči, toniki, anti-age kreme, pilingi za obraz, serumi, kreme za britje, maske za obraz in čistilni losjoni;
- izdelki za nego telesa: negovalna olja, pilingi za telo, losjoni za telo, geli za prhanje, šamponi za umivanje telesa, antiperspiranti in mila;
- izdelki za nego las: losjoni, pršila, šamponi, balzami, serumi, kozmetični izdelki za oblikovanje las, pene, šamponi proti prhljaju in barve za lase;
- dekorativna kozmetika: črtala za ustnice in za oči, šminke, leščila, pudri, korektorji, senčila za oči, maskare, rdečila in laki za nohte;
- izdelki za zaščito pred soncem: kreme, losjoni, olja, geli in pršila za zaščito kože pred UV-žarki;
- izdelki za ustno higieno: zobne paste, ustne vodice in izdelki za nitkanje;
- parfumi: izdelki po britju, parfumi in dišeča olja.

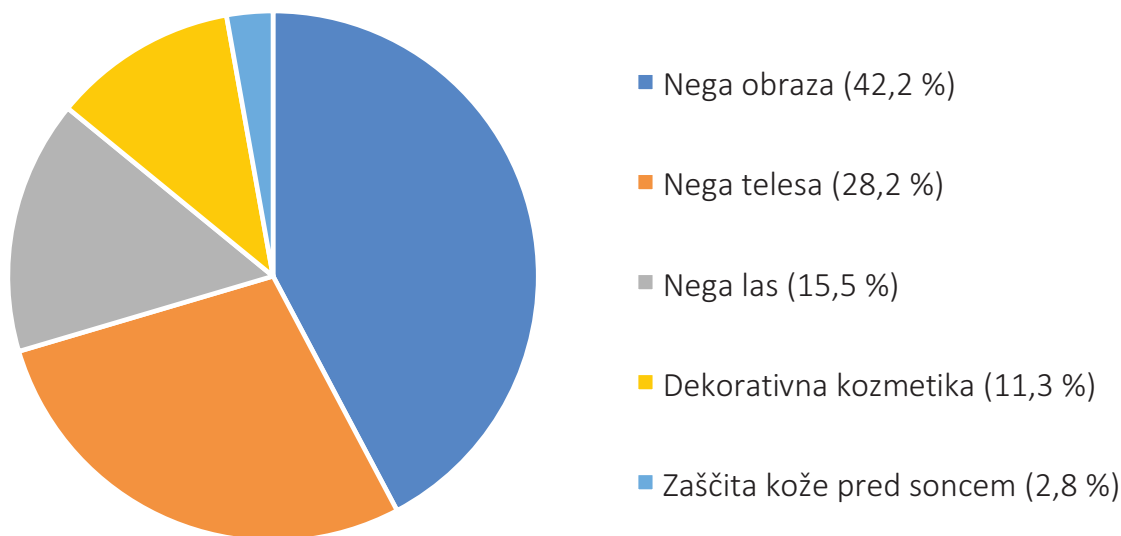
Razdelitev personaliziranih kozmetičnih izdelkov glede na zgoraj opisan namen uporabe prikazuje slika 3. Ugotovili smo, da so personalizirani izdelki, ki so dostopni na slovenskem trgu, zastopani v vseh kategorijah, razen v zadnjih dveh (izdelki za ustno higieno in parfumi).



n (KI) = 67

Slika 2: Vrsta personalizacije pri izbranih kozmetičnih izdelkih (KI).

Figure 2: Type of personalisation for selected cosmetic products (KI).



n (KI) = 67

Slika 3: Namen uporabe personaliziranih kozmetičnih izdelkov (KI).

Figure 3: Personalised cosmetic products (KI) according to the purpose of use.

Največ (42,2 %) izdelkov je bilo namenjenih negi obraza, ki so jim z 28,2 % sledili izdelki za nego telesa. Po nekaterih kriterijih (15) kozmetične izdelke za nego kože na obrazu in telesu uvrščajo v isto kategorijo, in sicer pod izdelke za nego kože. Po statističnih podatkih na svetovnem kozmetičnem trgu za zadnjih deset let (2011–2021) po namenu uporabe prevladujejo izdelki za nego kože, na drugem mestu so izdelki za nego las in na tretjem dekorativna kozmetika (16), s čimer se skladajo tudi naši rezultati. Na podlagi tega sklepamo, da je povpraševanje po personalizirani kozmetiki glede na namen uporabe pri nas precej podobno kot pri klasični kozmetiki.

Najmanj personaliziranih kozmetičnih izdelkov je bilo v kategoriji izdelkov za zaščito kože pred soncem. Čeprav obstajajo starejše raziskave (17), ki navajajo podatek, da velik odstotek populacije nikoli ne uporablja teh izdelkov, po našem mnenju to ni glavni vzrok za nizko pojavnost; v zadnjem času se je namreč osveščenost potrošnikov o nujni zaščiti pred škodljivimi učinki sončne svetlobe močno povečala. Verjetneje se nam zdi, da je možnost personalizacije sestave v tej kategoriji manjša. Pri teh izdelkih je namreč glavna sestavina UV-filter, ki je določen z višino SPF. Temu se mora prilagoditi tudi zaščita pred UVA-žarki, dodatno pa so večje tudi zahteve za stabilnost zaradi uporabe na soncu. Predvidevamo, da zaradi vseh zgoraj naštetih razlogov ti izdelki za proizvajalce personalizirane kozmetike zaenkrat še niso tako zanimivi.

4.3 CENOVNA ANALIZA

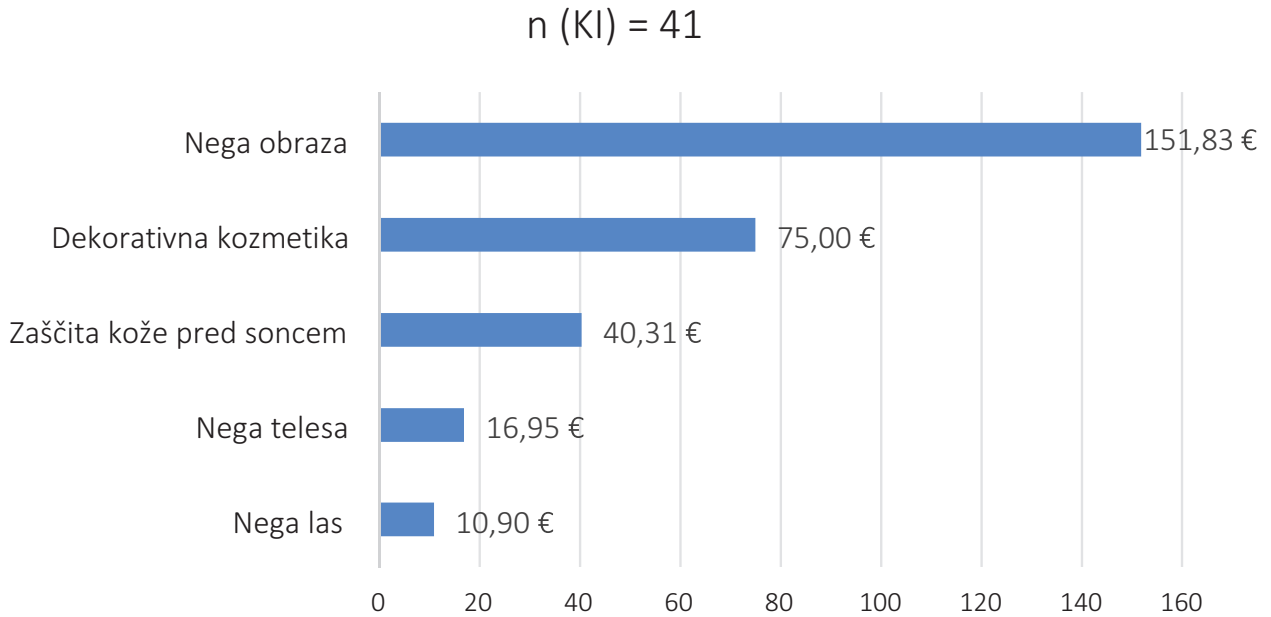
Za posamezno skupino kozmetičnih izdelkov glede na namen uporabe smo izračunali povprečno ceno izdelkov na enak volumen (100 mL oziroma 100 g), kar prikazuje slika 4. Število izdelkov pri tej analizi je manjše od začetnega, saj smo izključili vse tiste, ki jih prodajajo v paketu ali kot osnovno formulacijo v kombinaciji z ojačevalci, in tiste, ki niso imeli navedene volumske enote. Končno število je bilo 41.

Glede na izračunane poprečne cene so med personaliziranimi kozmetičnimi izdelki najdražji izdelki za nego obraza, sledi jim dekorativna kozmetika, na tretjem mestu so izdelki za zaščito kože pred soncem, na zadnjih dveh mestih pa so izdelki za nego telesa in las.

Cene personaliziranih izdelkov glede na namen uporabe smo v nadaljevanju preračunali še na pakiranje; to so namreč cene, po katerih jih prodajajo in običajno najbolj zanimajo potrošnike. Poleg tega povprečne cene posameznih vrst klasičnih kozmetičnih izdelkov, ki smo jih našli na spletu, niso bile preračunane na enak volumen, ampak na pakiranje. Iz te primerjave smo izločili tiste personalizirane izdelke, ki so se prodajali v paketu. Končno število izdelkov je bilo 57, rezultate pa predstavlja slika 5.

Poprečne cene se razlikujejo od tistih, ki so predstavljene na sliki 4. Dejanska povprečna cena personalizirane kozmetike je še vedno najvišja pri izdelkih za nego obraza, vendar nominalno precej nižja, kot je pokazal izračun glede

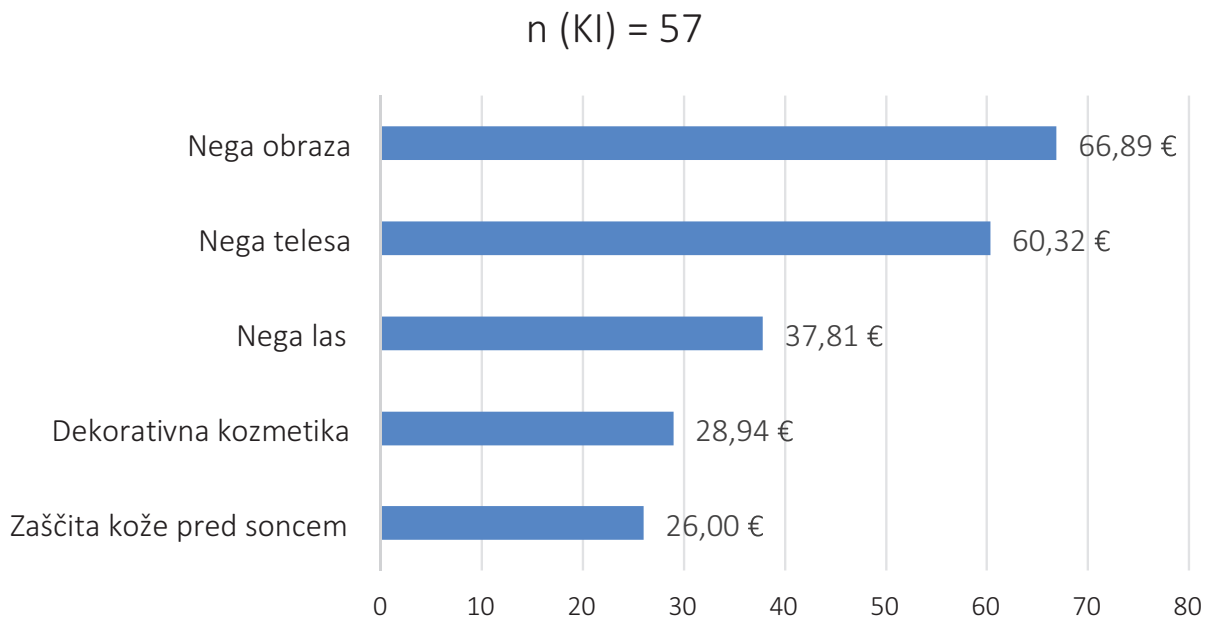




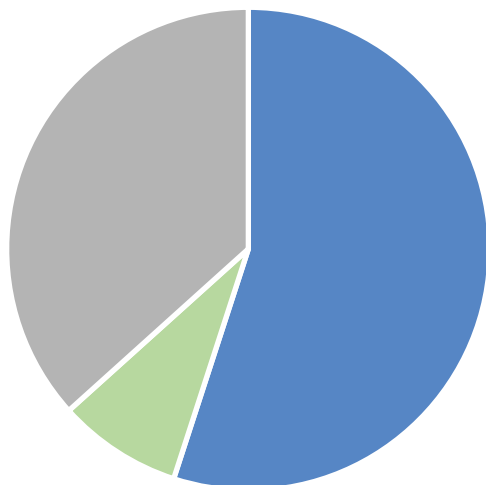
Slika 4: Povprečna cena personaliziranih kozmetičnih izdelkov (KI) glede na namen uporabe, preračunano na 100 mL (oziroma 100 g) izdelka.
Figure 4: Average price of personalised cosmetic products (KI) according to the purpose of use per 100 mL (or 100 g) of the product.

na volumen (66,89 € in 151,89 €). Ker je površina obraza majhna, je tudi poraba teh izdelkov v primerjavi s celim telesom manjša in zadostujejo za dalj časa. Enako velja tudi za dekorativno kozmetiko. Obratna situacija je pri izdelkih

za nego telesa, ki jih porabimo več, zato so poprečne cene na pakiranje višje kot pri preračunu na volumen. Pri podatkih o poprečni ceni moramo biti torej pozorni, na koliko enoto (volumen ali pakiranje) se le-ta nanaša.



Slika 5: Povprečna cena personaliziranih kozmetičnih izdelkov (KI) glede na namen uporabe, preračunano na pakiranje.
Figure 5: Average price of personalised cosmetic products (KI) according to the purpose of use.



n (KI) = 54

Slika 6: Personalizirani kozmetični izdelki (KI) glede na način pridobivanja podatkov o potrošniku.

Figure 6: Personalised cosmetic products (KI) according to the method of obtaining data about the consumer.

Še bolj zanimiva je cenovna primerjava s klasičnimi izdelki. Žal smo podatke lahko pridobili samo za dve skupini. Glede na statistične podatke je leta 2020 znašala povprečna cena kozmetičnih izdelkov za nego las približno 3,64 €, povprečna cena dekorativne kozmetike pa 7,61 € (18, 19). Na osnovi teh dveh primerjav lahko potrdimo, da je personalizirana kozmetika občutno dražja od klasične. Sklepamo, da so razlog za višjo ceno personalizirane kozmetike dodatni koraki v procesu izdelave, do določenih mej pa tudi »dodana vrednost«, ki jo izdelkom prinese personalizacija.

4.4 NAČIN PRIDOBIVANJA PODATKOV O POTROŠNIKU, NAČIN ANALIZE PODATKOV IN PROCES IZDELAVE IZDELKA

V nadaljevanju smo proučili samo izdelke, ki imajo personalizirano formulacijo (samostojno ali v kombinaciji z ovojnino). Temu kriteriju je ustrezalo 54 izdelkov (80,6 % vseh izbranih). Predstavljeni so na slikah 6, 7 in 8 glede na pomembne stopnje v izdelavi personalizirane kozmetike, in sicer pridobivanje podatkov o potrošniku (slika 6), analizo pridobljenih podatkov (slika 7) in izdelavo (slika 8).

Ugotovili smo, da največ proizvajalcev, kar dobra polovica, podatke od potrošnikov pridobiva s spletnimi vprašalniki, kar tudi v literaturi omenjajo kot enega izmed najpogostejših načinov (6). Prednost pred pogovorom s strokovnjakom (8,3 %) vidimo predvsem v tem, da potrošniki za izpolnje-

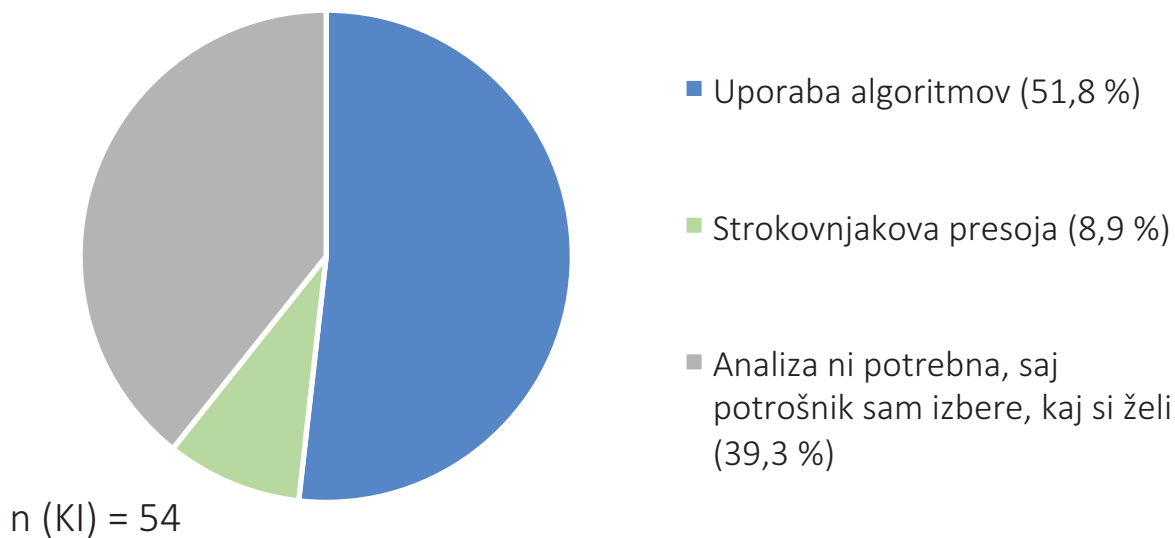
vanje vprašalnika porabijo manj časa in je možno od doma. Personalizacija na način, da se potrošnik sam odloči, kaj želi, in sam izbere sestavine (36,7 % izbranih izdelkov), je dokaj enostavna, saj za izdelavo takšnega izdelka niso potrebne tehnologije industrije 4.0, hkrati pa vseeno omogoča potrošniku, da se počuti kot pomemben člen pri izdelavi kozmetičnega izdelka.

Analiza pridobljenih podatkov (slika 7) večinoma poteka z uporabo algoritmov, kar pomeni, da izdelava teh izdelkov temelji na uporabi umetne inteligence. Proizvajalci, ki uporabljajo takšen pristop, morajo imeti izdelano podatkovno bazo s področja, ki mu je izdelek namenjen (npr. za nego kože, za nego las itd.). Izdelava preostalih 48,2 % vključenih izdelkov pa ne temelji na uporabi umetne inteligence, saj podatke analizira bodisi strokovnjak (8,9 %), bodisi analiza ni potrebna, ker potrošniki sami izberejo, katere sestavine oz. dodatke si želijo v svojem izdelku (39,3 %). Visok delež izdelkov, pri katerih se podatki analizirajo z uporabo algoritmov, sporoča, da razvoj personalizirane kozmetike brez sodobne tehnologije ne bi bil tako obsežen.

Razdelitev kozmetičnih izdelkov glede na način izdelave prikazuje slika 8.

Največ izbranih personaliziranih izdelkov je izdelanih v klasičnem proizvodnem obratu (70,4 %), kar je skladno z literaturnimi podatki (6). To je najbolj pogost način izdelave in velja za standard. Najmanjši delež vključenih izdelkov je izdelan z domačimi mešalnimi napravami, verjetno zato, ker so te naprave precej drage (20, 21). Dodajanje kozmetično aktivnih sestavin k osnovnemu izdelku (27,8 % izbranih iz-



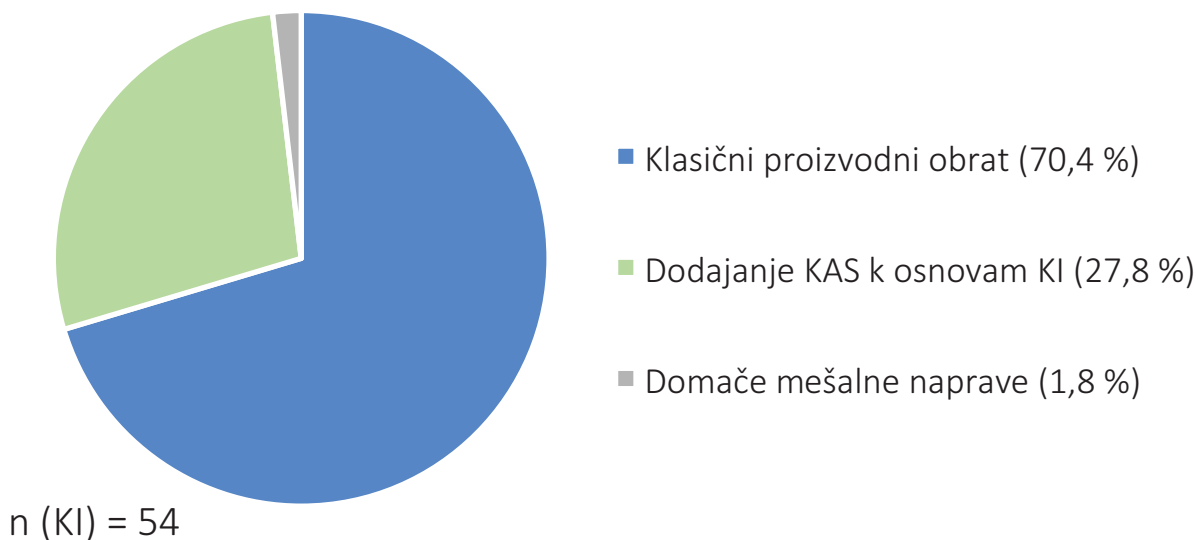


Slika 7: Personalizirani kozmetični izdelki (KI) glede na način analize pridobljenih podatkov.

Figure 7: Personalised cosmetic products (KI) according to the method of data analysis.

delkov) je najbolj enostaven način izdelave personalizirane kozmetike, vendar pa je to hkrati tudi najmanj nadzorovan proces (manj nadzorovana količina, potrošniki lahko kozmetično aktivne sestavine namesto osnovi, ki so jo kupili

poleg kozmetično aktivne sestavine, primešajo tudi kakšnemu drugemu izdelku, ki ga uporabljajo, pri tem pa ni nujno, da so sestavine kompatibilne in da je takšna uporaba sploh varna, itd.) (6).



Slika 8: Personalizirani kozmetični izdelki (KI) glede na način izdelave.

Figure 8: Personalised cosmetic products (KI) according to the method of production.

5 SKLEP

S pregledom personalizirane kozmetike na slovenskem trgu smo prišli do naslednjih ugotovitev:

Število personaliziranih izdelkov, ki jih potrošniki lahko kupijo na slovenskem trgu, je dokaj nizko. Od dostopnih izdelkov jih je največ namenjenih negi kože obraza in telesa, z izjemo kozmetike za ustno higieno in parfumov pa lahko slovenski potrošniki kupijo tudi vse ostale vrste personaliziranih izdelkov.

Najbolj pogosta personalizacija, ki jo proizvajalci omogočajo, je personalizacija formulacije oz. formulacije in ovojnine hkrati. Pri večini izdelkov so glavni koraki v procesu izdelave izpolnitev spletnega vprašalnika, analiza le-tega z uporabo umetne inteligence na osnovi algoritmov in izdelava končnega izdelka v klasičnem proizvodnem obratu. Ob pregledu literature na temo personalizirane kozmetike smo ugotovili, da je to še dokaj nova in v strokovnih člankih neraziskana tema, ki pa postaja vedno bolj aktualna. Predvidevamo, da se bo trg za personalizirano kozmetiko v naslednjih letih občutno povečal, pod pogojem, da se bo povečal tudi obseg oglaševanja le-te.

6 LITERATURA

1. Saniuk S, Grabowska S, Gajdzik B. Personalization of Products in the Industry 4.0 Concept and Its Impact on Achieving a Higher Level of Sustainable Consumption. *Energies*. 2020;13(22):5895.
2. Vesanen J. What is personalization? A conceptual framework. *Eur J Mark*. 2007;41(5/6):409-18.
3. Skilton M, Hovsepian F. *The 4th Industrial Revolution* [Internet]. Cham: Springer Nature; 2018 [cited 2032 Jan 30]. 14-15 p. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/bfm:978-3-319-62479-2/1.pdf>
4. Markiewicz E, Idowu OC. Personalized skincare: from molecular basis to clinical and commercial applications. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2018;11:161-71.
5. Young K. Personalized Beauty: What the Data Tells Us. *Carol Stream: Global Cosmetics Industry, Allured Business Media*; 2020 [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.gcimagazine.com/brands-products/news/article/21849151/personalized-beauty-what-the-data-tells-us>.
6. Eixarch H, Wyness L, Sibanda M: The Regulation of Personalized Cosmetics in the EU. *Cosmetics* 2019;6(2):29-33.
7. Cheng YS, Lam KW, Ng KM, Ko RKM, Wibowo C. An integrative approach to product development – A skin-care cream. *Comput Chem Eng*. 2009;33(5):1097-113.
8. Gosenca Matjaž M. Technological aspects of cosmetic products – Vehicles and delivery systems. In: Janeš D, Kočever Glavač N, editors. *Modern cosmetics, Ingredients of natural origin, A scientific view*. 1st ed. Velenje: Širimo dobro besedo; 2021: p. 34-44.
9. Personalized Beauty Devices Market. Newark: Future Market Insights; 2021 [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/personalized-beauty-devices-market>.
10. Cremology [cited 2032 Jan 30]. <http://cremology.com/personalised-cosmetic/>. Dostop: 24-04-2022.
11. Salsky E. Personalization in Beauty Tech using AI and AR. *Investigating Consumer Behaviour and Benefits of Personalization in Beauty* (Master's thesis). Tampere University of Applied Sciences; 2020 [cited 2032 Jan 30]. Available from: https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/344942/Salsky_Ezra.pdf?sequence=3.
12. Next-Generation Personalized Beauty Market worth \$ 143.6 Billion by 2030 – Exclusive Report by InsightAce Analytic. *PR Newswire*; 2022 [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.prnewswire.com/news-releases/next-generation-personalized-beauty-market-worth--143-6-billion-by-2030---exclusive-report-by-insightace-analytic-301498884.html#:~:text=According%20to%20the%20latest%20research,forecast%20period%20of%202022%2D2030>.
13. Kwon KH, Ma Y. Changes in purchasing patterns in the beauty market due to Post-COVID-19: Literature review. *J Cosmet Dermatol* 2021;20(10):3074-79.
14. Cosmetics Europe. *Cosmetic products, The Basics*. Brussels: Cosmetics Europe [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://cosmeticseurope.eu/cosmetic-products/#:~:text=Specifically%2C%20there%20are%20seven%20categories,cosmetics%2C%20body%20care%20and%20perfumes>.
15. FDA. *Cosmetic Product Category Codes*. Silver Spring: FDA [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.fda.gov/cosmetics/paper-registration-voluntary-cosmetic-registration-program-vcrp/cosmetic-product-category-codes>.
16. Statista. *Breakdown of the cosmetic market worldwide from 2011 to 2021, by product category*. Hamburg: Statista; 2022 [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.statista.com/statistics/243967/breakdown-of-the-cosmetic-market-worldwide-by-product-category/>.
17. Holman DM, Berkowitz Z, Guy GP, Hawkins NA, Saraiya M, Watson M. Patterns of sunscreen use on the face and other exposed skin among US adults. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73(1):83-92.
18. Statista. *Average price of hair care products in Italy as of 2020, by product*. Hamburg: Statista; 2020 [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.statista.com/statistics/1133284/average-price-of-hair-care-products-in-italy/>.
19. Statista. *Average unit price of facial cosmetics in the U.S. in 2021, by product category*. Hamburg: Statista; 2022 [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.statista.com/statistics/898345/us-facial-cosmetics-unit-price-by-product/>.
20. Lesielle [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.lesielle.com/int/en/>.
21. EMUAGE [cited 2032 Jan 30]. Available from: <https://www.emuage.com/en>.



ANTIOKSIDANTI NARAVNEGA IZVORA V KOZMETIKI

ANTIOXIDANTS OF NATURAL ORIGIN IN COSMETICS

AVTORJA / AUTHORS:

Ana Marolt, dipl. kozmet.
izr. prof. dr. Janez Mravljak, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko kemijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: janez.mrvljak@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Število kozmetičnih izdelkov z antioksidanti kot kozmetično aktivnimi sestavinami iz leta v leto narašča. Naša koža je zaradi ultravijoličnega (UV) sevanja konstantno izpostavljena oksidativnemu stresu, torej nastanku reaktivnih kisikovih (ROS) in dušikovih (RNS) zvrsti, ki pomembno vplivajo na procese fotostaranja in kožne nepravilnosti, ki se jim želimo izogniti. ROS in RNS v koži povzročajo oksidativne poškodbe lipidov, proteinov in nukleinskih kislin (1–5). Natančneje, povečana količina ROS in RNS v koži lahko povzroča mutacije DNA, zavira delovanje endogenih encimov (superoksid dismutaze, katalaze in glutation-peroksidaze) in aktivira prepisovalne dejavnike (npr. transkripcijski jedrni

POVZETEK

Oksidativni stres povzroča poškodbe lipidov, proteinov in nukleinskih kislin in je s tem pomembno vključen v procese prezgodnjega staranja kože, vnetja in tudi v rakave spremembe kože. Številni pristopi za zmanjšanje poškodb, ki nastanejo kot posledica oksidativnega stresa, vključujejo tudi dermalno uporabo naravnih antioksidantov. Najštevilnejši skupini fitoantioksidantov so polifenoli in terpeni. Polifenole v grobem delimo na flavonoide, fenolne kisline, lignane in stilbenoide. Najdemo jih v vseh rastlinah v vlogi sekundarnih metabolitov. Po nanosu na kožo delujejo kot reducenti, tj. donorji vodika ali elektronov ter kot kelatorji kovinskih ionov, s čimer ustavijo radikalne reakcije in tako preprečijo nadaljnje poškodbe kože. Terpeni so prav tako široko porazdeljeni v rastlinah, antioksidativno delovanje pa pripisujemo preprečevanju lipidne oksidacije z doniranjem vodikovega atoma. Najpomembnejša terpenska podskupina antioksidantov v kozmetičnih izdelkih so karotenoidi. V preglednem članku sta podrobneje opisana mehanizem delovanja polifenolov in terpenov in njihova pomembna vloga kozmetično aktivnih sestavin v kozmetiki.

KLJUČNE BESEDE:

fitoantioksidanti, kozmetika, oksidativni stres, polifenoli, terpeni

ABSTRACT

Oxidative stress causing damage to lipids, proteins and nucleic acids is considerably involved in the process of premature skin aging, inflammation and also in cancerous skin changes. Many approaches to reduce damage caused by oxidative stress also include the dermal use of natural antioxidants. The largest groups of phytoantioxidants are polyphenols and terpenes. Polyphenols are generally divided into flavonoids, phenolic acids, lignans and stilbenoids. They are found in all plants as secondary metabolites. After application to the skin, they act as reducing agents, i.e. hydrogen and electron donors and metal ion chelators to stop radical reactions and prevent further skin damage. Terpenes are also widely distributed in plants, and the antioxidant action is attributed to the prevention of lipid oxidations by donating a hydrogen atom.

Among terpenes, carotenoids are the most important subgroup used in cosmetics. The review article describes in detail the mechanism of action of polyphenols and terpenes as cosmetically active ingredients.

KEY WORDS:

phytoantioxidants, cosmetics, oxidative stress, polyphenols, terpenes

faktor- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), aktivacijski protein-1 (AP-1) in mitogen aktivirano protein kinazo (MAP-kinaza)). Aktivaciji NF- $\kappa\beta$ in AP-1 prispevata k indukciji matriks metaloproteinaz (MMP) in s tem k razgradnji zunajceličnega ogrodja, aktivacija NF- $\kappa\beta$ aktivira tudi ciklooksigenazo 2 (COX-2), ki pretvori arahidonsko kislino v prostaglandin E2 (PGE-2), zaradi česar se poruši homeostaza, s tem pa se poveča količina zunajcelične tekočine (2, 6–8).

Oksidativne poškodbe proteinov lahko prizadenejo njihovo funkcijo (9). Radikali poškodujejo peptidni skelet z odtegnitvijo vodikovega atoma, vezanega na α -ogljik v peptidni verigi. To sproži kaskado reakcij, ki na koncu privedejo do tvorbe alkoksilnih radikalov ali iminov, kar nadalje povzroči spontano cepitev proteinov. Če ROS povzročijo poškodbe na stranskih verigah aminokislin, to vodi v nastanek karbnilnih spojin (ketonov ali aldehydov). Te spremembe so nepopravljive in služijo kot zgodnji označevalci oksidativnega stresa (9, 10). Povišane ravni ROS vodijo do nastanka velikih beljakovinsko-lipidnih agregatov, znanih kot lipofuscin. Lipofuscin (kar pomeni »temna maščoba«) je odpadna, nerazgradljiva, rumeno-rjavkasta snov, ki je med eksocitozo ni mogoče odstraniti iz celic in se kopiči v lizosomih med postmitotičnimi celicami. Lipofuscin se pojavlja v skoraj vseh vrstah celic, vključno s fibroblasti in keratinociti, kjer zmanjšuje aktivnost proteasomov (10, 11). Lipofuscin lahko v svojo strukturo veže različne kovine, kot so baker, cink, mangan, kalcij in železo, pa tudi beljakovine, ki vsebujejo kovine (npr. feritin). Ireverzibilna vezava kovin omogoči nastanek novega redoks aktivnega mesta za tvorbo radikalov, kot je hidroksilni radikal. Kopičenje lipofuscina v lizosomih dolgoročno privede do zmanjšane razgradnje oksidiranih beljakovin in povečanja znotrajcelične tvorbe radikalov (10, 12). Količina lipofuscina s starostjo narašča v postmitotičnih celicah, zato ga imenujemo tudi »starostni pigment« ali »zaščitni znak staranja«. Prisotnost lipofuscina v koži je povezana s pojavom pigmentacije, splošno znane kot jetrne pege na hrbtni strani rok, pa tudi na obrazu (predvsem na licih) in prsnem košu (11). Alkok-

silni (RO^{*}) in peroksilni (ROO^{*}) radikali, ki nastanejo pri oksidaciji lipidov, lahko povzročijo premreženje in ireverzibilno denaturacijo proteinov (predvsem kolagena), kar vodi v prezgodnje staranje (nastanek gub, starostnih peg in/ali depigmentiranih področij, zmanjšanje elastičnosti kože), vnetja in rakave spremembe kože (13).

Tudi rastline so podvržene oksidativnemu stresu, ki ga povzroča UV-sevanje, zato so razvile več strategij, med drugim zelo učinkovite molekule za obrambo pred okoljskim stresom. Rastline tako vsebujejo več različnih antioksidantov, ki jih imenujemo fitoantioksidanti. Z njimi zaščitijo svoje celice in zunajcelično ogrodje pred oksidativnim stresom, ki ga povzroči UV-sevanje, hkrati pa predstavljajo zaščito drugim organizmom ob zaužitju ali lokalnem nanosu (3).

Na področju kozmetike antioksidanti pripomorejo k preprečevanju sprememb v strukturi in funkciji kože. V članku opisujemo polifenole in terpene, največji skupini fitoantioksidantov, z vidika mehanizmov delovanja in njihovih pomembnih vlog kot kozmetično aktivne sestavine (3).

2 POLIFENOLI

Polifenoli so skupina antioksidantov, ki jih najdemo v koreninah, steblih, listih in cvetovih vseh rastlin, kjer imajo vlogo sekundarnih metabolitov (14, 15). Nosilka antioksidativnih lastnosti je fenolna skupina, saj deluje kot donor vodika radikalom, ki nastanejo v koži. Antioksidativna kapaciteta polifenolov je pomembno povezana s številom in položajem hidroksilnih skupin na aromatskem obroču (16, 17). Polifenoli lahko tudi kelirajo kovinske ione. Najbolj znan antioksidant naravnega izvora, ki deluje kot kelator železovih ionov, je kvercetin (15, 18). Polifenole v grobem delimo na štiri glavne skupine, in sicer flavonoide, fenolne kisline, lignane in stilbenoide (3, 14).

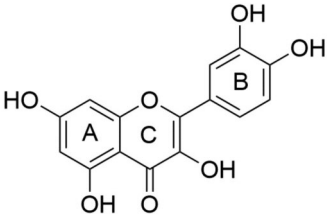
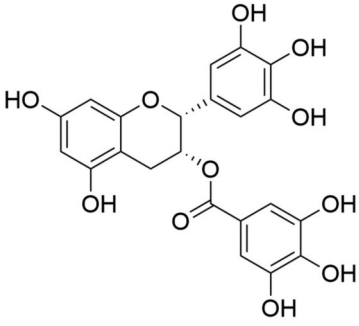
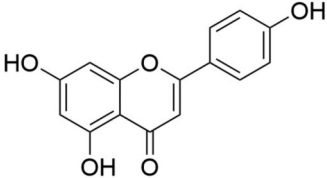
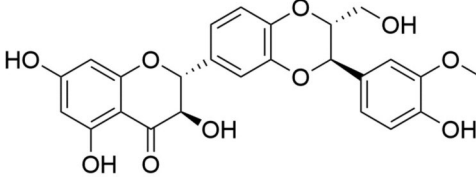
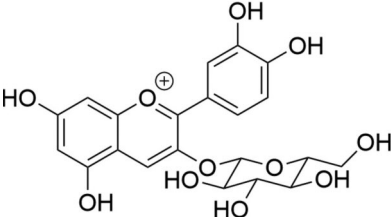
2.1 FLAVONOIDI

Flavonoidi so največja skupina polifenolov, nadalje so razdeljeni na 13 različnih podskupin (npr. flavoni, flavanololi, flavan-3-oli, flavanoni, antocianidini in izoflavoni), kamor uvrščamo več kot 5000 spojin (17). Običajno so prisotni v rastlinah kot glikozilirani derivati, ki prispevajo k odtenkom modre, škrlatne in oranžne barve v listih, cvetovih in plodovih. Flavonoide najdemo v zelenjavi, sadju, semenih oz.



Preglednica 1: Struktura, rastlinski izvor in glavno antioksidativno (AO) delovanje izbranih flavonoidov (1–3, 6–8, 17–19).

Table 1: Structure, plant origin and main antioxidant activity of selected flavonoids (1–3, 6–8, 17–19).

Flavonoidi (podskupina)	Struktura	Rastlinski izvor	Glavno AO delovanje
Kvercetin (flavanol)		grozdje, limone, jabolka, borovnice, čebula, zeleni čaj, rdeče vino, oljčno olje	Kelira železove ione, ščiti endogene AO, absorbira UV-sevanje in prepreči nastanek ROS, zavira lipidno peroksidacijo.
Epigalokatehin galat (flavan-3-ol)		čajevcec	Zmanjša lipidno peroksidacijo in oksidacijo beljakovin, zmanjša prisotnost pirimidinskih dimerov v DNA, zavira NF-κB, AP-1 in MAPK, ščiti pred UV-žarki.
Apigenin (flavon)		peteršilj, rožmarin, timijan, jabolka, češnje, grozdje, fižol, brokoli, zelena, por, čebula, ječmen, paradižnik, zeleni čaj, vino	Zavira ornitin dekarboksilazo, ščiti pred UVA- in UVB-žarki, zmanjša apoptozo celic, odstranjuje radikale, deluje protivnetno.
Silibinin (flavolignan, ki nastane s kondenzacijo flavonoida (flavanonola) in fenilpropanoida)		semena in plodovi pegastega badlja	Kelira kovinske ione, odstranjuje radikale, preprečuje edeme kože, apoptozo kožnih celic, sončne opekline.
Cianidin 3-glukozid (antocianin)		pomarančevcec, borovnice, črni bezeg, črni ribez, divji hibiskus, asaj	Odstranjuje radikale, zavira ksantin oksidazo, preprečuje poškodbe kolagena in vnetne odzive preko signalizacije NF-κB in MAPK in s tem fotostaranje kože.

oreščkih, žitih, začimbah in različnih zdravilnih rastlinah, pa tudi v rdečem vinu in zelenem čaju. Osnovni skelet flavonoidov predstavlja flavon (2-fenil-1,4-benzopiran), ki je sestavljen iz dveh fenilnih obročev (A in B) ter heterocikličnega obroča C (preglednica 1; kvercetin) (1, 19). Antioksidativno aktivnost določajo prisotne hidroksilne in karbonylne skupine ter dvojne vezi v molekuli flavona. Hidroksilne skupine na obeh aromatskih obročih so donorji vodika ali elektrona reaktivnim radikalom. Nastali flavonoidni radikal je dokaj stabilen zaradi delokalizacije nesparjenega elektrona po aromatskem obroču. Povečanje števila substituentov na aromatskih obročih (npr. hidroksilnih skupin) in umestitev substituentov v *orto*- in *para*-položaj poveča antioksidativno kapaciteto. Poleg odstranjevanja radikalov z doniranjem vodika flavonoidi delujejo tudi kot kelatorji kovinskih ionov. Kelati z bakrom ali železom preprečujejo vstop kovinskega iona v redoks reakcije in s tem nastanek ROS (1, 16, 18).

Zaradi antioksidativnih in protivnetnih učinkov so polifenoli pomembne kozmetično aktivne sestavine kozmetičnih izdelkov za nego kože. Preglednica 1 predstavlja izbrane flavonoide, njihov rastlinski izvor in mehanizem antioksidativnega (AO) delovanja.

2.2 FENOLNE KISLINE

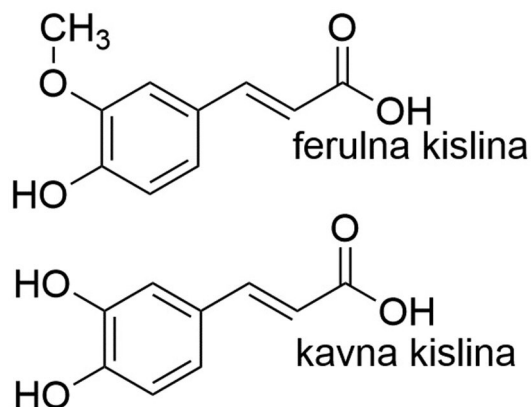
Fenolne kisline delimo na derivate benzojske in cimetne kisline; med slednje spadata pomembna predstavnika antioksidantov v kozmetiki, ferulna in kavna kislina (slika 1) (8, 17). Antioksidativni mehanizem odstranjevanja radikalov fenolnih kislin je podoben kot v primeru flavonoidov in je povezan s sposobnostjo doniranja vodika in resonančne

stabilizacije nastalih radikalov. Kavna kislina s 3,4-dihidroksifenilno skupino omogoča keliranje kovinskih ionov, podobno kot pri flavonoidih (1, 19).

Kavno kislino (3,4-dihidroksicimetno kislino) najdemo predvsem v semenih kave, žitih in sadju, npr. v jagodah in jabolkih, medtem ko ferulno kislino (4-hidroksi-3-metoksicimetno kislino) najdemo v riževih semenih, žitih (oves, rž), oreščkih (arašidih), listih in lubju vrbe (*Salix* sp.) (2, 19). Obe kislini ščitita kožo pred lipidno peroksidacijo, ki jo povzroča UV-sevanje, ter tako zlasti v kombinaciji z drugimi kozmetično aktivnimi sestavinami (npr. UV-filtri) prispevata k zaščiti pred sončnimi opeklinami, ki jih povzroča UVB-sevanje (290 do 320 nm) in zmanjšata negativne učinke UVA-sevanja (320 do 400 nm), fotostarjanje kože, alergije na sonce, motnje pigmentacije in tveganje za nastanek kožnega raka (2, 19). Ferulna kislina absorbira UV-žarke učinkoviteje kot kavna kislina in je zato bolj priljubljena v izdelkih za zaščito kože, v kombinaciji z vitaminoma C in E pa dodatno pripomore k njuni stabilizaciji in fotoprotektivnemu učinku kozmetičnih izdelkov (14). Izvleček epifitske praproti vrste *Phlebodium aureum* (syn. *Polypodium leucotomos*), ki je bogat s kavno in ferulno kislino, zavira lipidno peroksidacijo, z UV-sevanjem povzročeno poškodbo celične membrane ter aktivacijo AP-1 in NF- κ B (2). Poleg izdelkov z zaščitnim faktorjem sta ferulna in kavna kislina priljubljeni kozmetično aktivni sestavini izdelkov proti staranju (14).

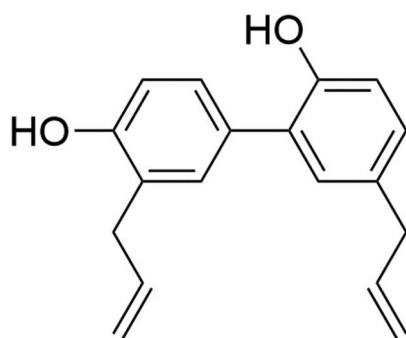
2.3 LIGNANI

Lignani pripadajo fenilpropanoidnim derivatom z dimerno molekularno strukturo. Vsebujejo dve enoti C6-C3 in povezavo β '- β ' v položaju 8-8'. Lignane najdemo v semenih, žitih in rastlinskih izvlečkih, ki izvirajo iz nekaterih botaničnih rodov, vključno z *Magnolia*, *Eleutherococcus*, *Schisandra* in *Linum*. Na splošno so lignani pomembne sestavine za širok spekter zaščite pred soncem. Njihovo antioksidativno delovanje so potrdili *in vitro* na humanih rakavih celičnih linijah, kjer so zaščitili DNA pred oksidativnimi poškodbami pri povišanih koncentracijah H₂O₂ (20). Quan in sod. (2016) so z metodami *in vitro* določali sončni zaščitni faktor in analizirali fotostabilnost izdelkov za zaščito pred soncem, ki so jim dodali lignin. Ugotovili so, da lahko lignani znatno povečajo učinkovitost izdelkov za zaščito pred soncem in izboljšajo njihovo fotostabilnost (21). Honokiol (slika 2), ki ga najdemo v lubju in cvetovih magnolije (*Magnolia officinalis*), so Vaid in sod. (2010) uporabili v raziskavi, kjer so ga vgrajenega v hidrofilno kremo nanесли na kožo miši SKH-1. Ugotovili so, da je zaščitil kožna tkiva pred fotokarcinogenezo in zavrl nastajanje vnetnih dejavnikov v koži, ki jih



Slika 1: Strukturi ferulne in kavne kisline.

Figure 1: Structures of ferulic and caffeic acids.

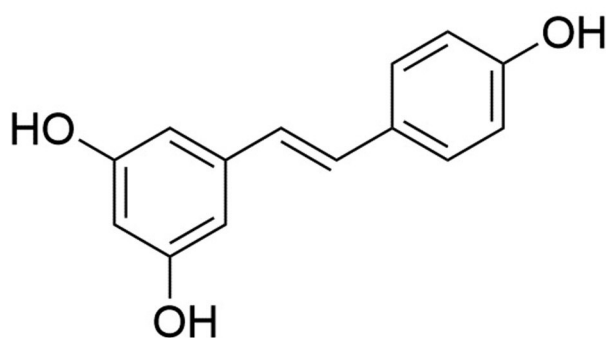


Slika 2: Struktura honokiola.
Figure 2: Structure of honokiol.

povzroča UVB, vključno s prostaglandinom E2, citokini in interleukini (IL-1 β in IL-6) (22). Montaño in sod. (2010) so izvleček lubja velecvetne magnolije (*Magnolia grandiflora*), ki je bogat z lignani, proučevali kot sestavino proti staranju v klinični raziskavi, kjer so kremo z 0,5-odstotno koncentracijo izvlečka v obliki proliposomov nanесли na kožo obraza (23). Opazili so zmanjšano pordelost kože, večjo elastičnost ter zmanjšano pojavnost gubic okoli oči. Prav tako so potrdili sposobnost zaviranja kožne biosinteze melanina, kar bi lahko izkoristili pri zdravljenju oz. odpravljanju hiperpigmentacije, starostnih in sončnih peg (23). Prav tako so z raziskavo *in vitro* na kožnih mišjih celicah B16F10 potrdili primernost izvlečka cvetov velecvetne magnolije za uporabo v izdelkih za posvetlitev kože (24). Raziskave *in vitro*, opravljene na tkivnih kulturah človeških epidermalnih keratinocitov, so pokazale, da ekstrakt plodov kitajske šisandre (*Schisandra chinensis*), ki je bogat z lignani, aktivira izražanje več genov, ki sodelujejo v kaskadi antioksidativnih reakcij, vključno z aktivacijo superoksid dismutaze, glutation peroksidaze in katalaze, ter drugih endogenih obrambnih mehanizmov, med njimi pot prepisovalnega dejavnika NRF2, ki igra ključno vlogo pri zaščiti celic pred škodljivimi učinki oksidativnega stresa (25).

2.4 STILBENOIDI

Najpomembnejši stilbenoid v kozmetiki je resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroksistilben; slika 3), ki je prisoten v nekaterih oreščkih, arašidih in brusnicah, največ pa ga najdemo v rdečem grozdju in koreninah japonskega dresnika (*Reynoutria japonica*, bolj znan pod prej veljavnima botaničnima imenoma *Fallopia japonica* in *Polygonum cuspidatum*) (2, 7, 8, 19). Resveratrol v rastlinah deluje kot fitoaleksin – zaščitna snov, ki se sintetizira, kadar je rastlina izpostavljena stresu, npr. okužbam ali močnemu UV-sevanju (2).



Slika 3: Struktura resveratrola.
Figure 3: Structure of resveratrol.

V kozmetičnih izdelkih je zelo cenjen, saj izkazuje močne antioksidativne lastnosti (2, 7). Pogosto ga uporabljamo v kremah proti gubam in izdelkih z zaščitnim faktorjem, saj kožo ščiti pred poškodbami, povzročenimi z UVA- in UVB-sevanjem (5, 6, 19). Po nanosu na kožo odstranjuje radikale in kelira kovinske ione (2, 3, 7). Številne raziskave *in vivo* in *in vitro* so dokazale tudi, da resveratrol ob nanosu na kožo vpliva na izražanje genov, npr. gena *SIRT1*, ki sodeluje pri celični proliferaciji, apoptozi in procesih staranja (6, 19). Prav tako so dokazali, da poveča izražanje genov za proteine zunajceličnega ogrodja, kot sta kolagen in elastin, proizvodnjo endogenih antioksidantov, kot sta katalaza in superoksid dismutaza (19), zavira provnetni encim COX-2 in encim ornitin dekarboksilazo, ki pomembno zavira učinke provnetnih mediatorjev (IL-1A, IL-6, IL-8) in tako zmanjša pojavnost številnih bioloških označevalcev staranja kože. Prav tako je zmožen omiliti z UVA inducirano oksidativni stres v človeških keratinocitih (7). Resveratrol podrobneje predstavljamo v ločenem članku te številke Farmacevtskega vestnika (str. 39).

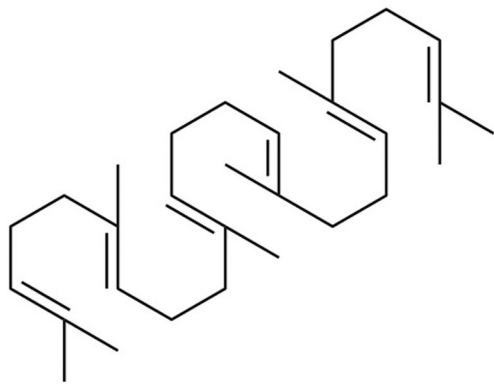
3 TERPENI

Terpeni so sestavljeni iz izoprenskih enot in jih razdelimo glede na dolžino skeleta in prisotnost dodatnih funkcionalnih skupin, kot so hidroksilna, ketonska, aldehidna in karboksilna, pri čemer oksidirane derivate imenujemo terpenoidi (26). Številni monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, triterpeni in tetraterpeni z dvojnimi vezmi ali fenolnimi skupinami kažejo antioksidativno aktivnost. Delujejo kot reducenti, saj donirajo vodikove atome lipidnim radikalom in s

tem upočasnjujejo lipidno peroksidacijo, ali kot lovilci radikalov, ki z radikali dajejo manj reaktivne radikalske produkte (26).

3.1 SKVALEN

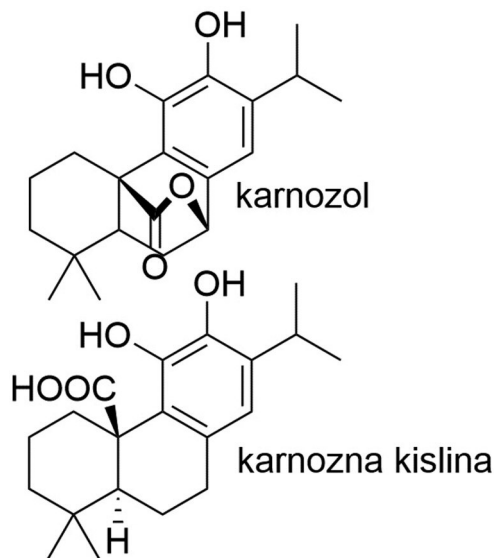
Skvalen je v naravi široko prisoten triterpen. Nahaja se v jetrih morskih psov, olju amaranta, oljk, riža, pšeničnih kalčkov, grozdnih pečk, arašidov in soje. Je prevladujoča in hkrati zelo pomembna sestavina sebuma. Na koži deluje kot emolient oz. vlažilno in antioksidant (27). Zaradi številnih dvojnih vezi v kemijski strukturi $C_{30}H_{50}$ (slika 4) deluje kot donor elektrona. Nastali radikal se stabilizira z izomerizacijo in pretvorbo skvalena v skvalen hidroperoksid. Skupaj s superoksid dismutazo v koži odstranjuje superoksidne anione v keratinocitih, ki so bolj izpostavljeni oksidativnim stresorjem iz okolja (28). Ker je zelo reaktiven in izjemno hitro oksidira, v kozmetične izdelke vgrajujemo njegov popolnoma vodikovni derivat – skvalan. Ta je zelo pomemben emolient v številnih kozmetičnih izdelkih, nima pa antioksidativnega delovanja.



Slika 4: Struktura skvalena.
Figure 4: Structure of squalene.

3.2 KARNOZOL IN KARNOZNA KISLINA

Pomembna predstavnik triterpenoidov sta karnozol in karnozna kislina (slika 5). Prisotna sta v rožmarinu (*Rosmarinus officinalis*) in žajblju (*Salvia officinalis*), kjer sta odgovorna za približno 90 % njegove antioksidativne aktivnosti. Odstranjujeta radikale in s tem zmanjšata lipidno peroksidacijo na površini kože. V okviru *in vitro* testiranja na človeških fibroblastih sta karnozol in karnozna kislina zavrla povišanje RNA metaloproteinaze-1 zaradi UVA-žarkov (2, 3).

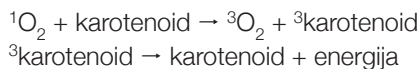


Slika 5: Strukturi karnozola in karnozne kisline.
Figure 5: Structures of carnosol and carnosic acid.

3.3 KAROTENOIDI

Največja skupina tetraterpenov so karotenoidi, lipofilna barvila, ki jih sintetizirajo rastline. Najdemo jih predvsem v rumeni in oranžni zelenjavi in sadju (β -karoten), korenju (α -karoten), paradižniku (likopen), temno zeleni listnati zelenjavi, brokoliju (lutein in zeaksantin) itn. (slika 6). Ti pomembni pigmenti ščitijo rastline pred UV-svetlobo in s tem povezanimi fotooksidativnimi poškodbami (7, 26). Poznamo več kot 600 karotenoidov, katerih osnovna zgradba je simetrični tetraterpenski skelet (26).

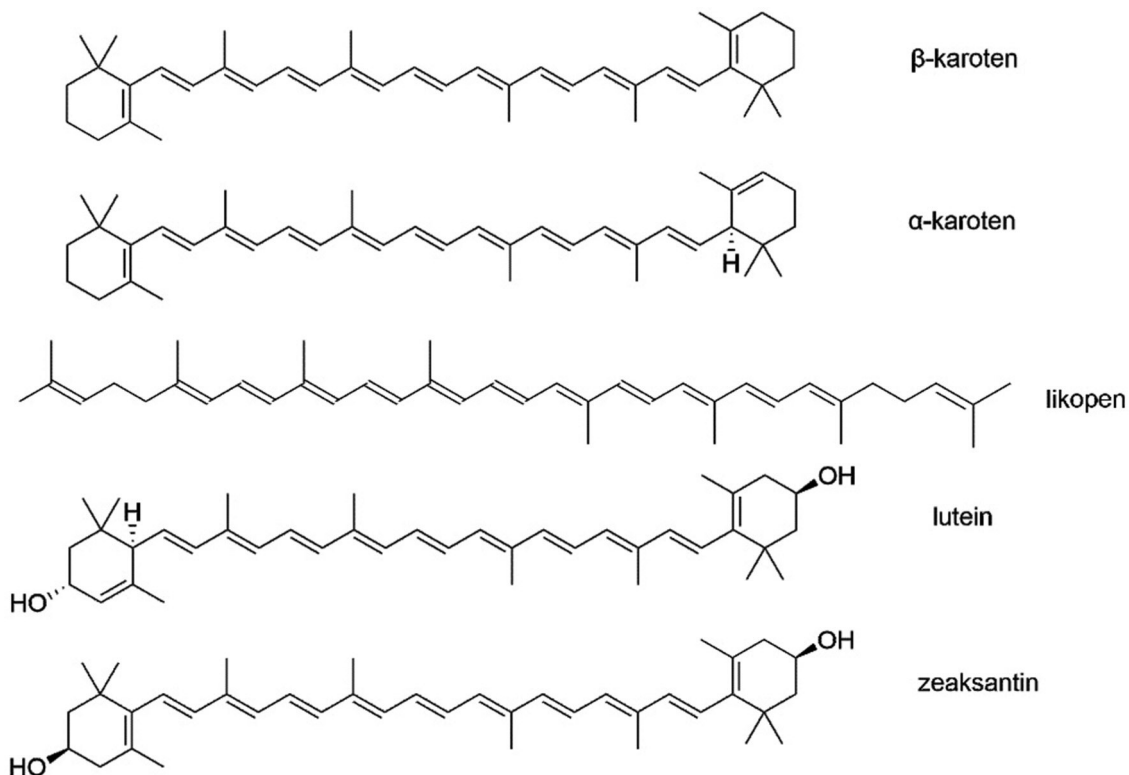
Glavni mehanizem fotozaščite pred singletnim kisikom s karotenoidi temelji na naslednji reakciji, kjer se zelo reaktiven singletni kisik (1O_2) pretvori v nenevaren tripletni kisik (3O_2):



Poleg tega lahko karotenoidi deaktivirajo vzbujene molekule fotoobčutljivih snovi, ki sodelujejo pri tvorbi ROS, zlasti 1O_2 (26). Ko odstranjujejo peroksilne radikale, lahko z njimi tvorijo resonančno stabilizirane radikalske produkte in s tem zmanjšajo oksidativne poškodbe kože (1, 2, 6, 26). Delujejo tudi citoprotektivno, saj preprečujejo izčrpanje zaloga glutathiona (GSH) (7).

3.3.1 Likopen in β -karoten

Likopen in β -karoten s svojimi konjugiranimi dvojnimi vezmi delujeta kot močna antioksidanta, ki sta v kozmetiki po-



Slika 6: Strukture izbranih karotenoidov.

Figure 6: Structures of selected carotenoids.

membrna kot kozmetično aktivni sestavini za zmanjševanje nastanka sončnih opeklin in eritema zaradi UV-sevanja (1–4).

4 KAKOVOSTNI KOZMETIČNI IZDELKI S FITOANTIOKSIDANTI

Kot smo že omenili, fitoantioksidante najpogosteje vgrajujemo v izdelke za zaščito pred soncem, nego kože in izdelke proti staranju kože (5, 6). Vendar pa lahko ugodno delovanje pričakujemo le, če so vgrajeni v primerni koncentraciji v ustrezen kozmetični izdelek tako z vidika kemijske stabilnosti kot sposobnosti prehajanja v kožo. Kozmetično aktivne sestavine morajo namreč biti sposobne preiti iz kozmetičnega izdelka v kožo, v aktivni obliki doseči ciljno tkivo in tam ostati dovolj dolgo, da izrazijo zelene učinke. Ker so antioksidanti nestabilni, se lahko oksidirajo in postanejo neaktivni, še preden dosežejo ciljno mesto (5). Novejše raziskave kažejo, da lahko stabilizacijo izbolj-

šamo npr. z vgrajevanjem v nanodostavne sisteme, kot so lipidni nanodelci, liposomi ali nanoemulzije (4, 6, 7, 15). Pri prehajanju antioksidanta iz kozmetičnega izdelka in v posamezne plasti kože so ključnega pomena lastnosti molekule, kot so lipofilnost, molekulska masa, koncentracija in oblika molekule (2, 5, 15, 17), in tudi lastnosti nosilnega sistema. Pri tem so pomembne pomožne snovi (npr. površinsko aktivne snovi delujejo kot pospeševalci penetracije) kot tudi tehnološka oblika (hidrogel, micelarni sistem) (4, 7, 15, 16, 20). Upoštevanje vseh teh dejavnikov je osnova za izdelavo kakovostnega in aktivnega kozmetičnega izdelka.

5 SKLEP

Fitoantioksidanti predstavljajo pomembno zaščito pred oksidativnim stresom. Med njimi smo podrobneje predstavili aktualne terpene in polifenole, ki delujejo kot donatorji vodika

ali elektrona ter kot kelatorji kovinskih ionov. Številne raziskave *in vitro* in *in vivo* dokazujejo, da s svojo sposobnostjo odstranjevanja radikalov po nanosu na kožo preprečujejo fotostaranje kože, vnetja, motnje v pigmentaciji in tudi poškodbe DNA v celicah kože, ki lahko vodijo v rakave bolezni. Kakovosten in aktiven kozmetičen izdelek s fitoantioksidanti tako predstavlja aktualno izvedljivo strategijo za preprečevanje in nego kožnih stanj, povezanih z oksidativnim stresom.

6 LITERATURA

- Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*. 2015;5(35):27986-8006.
- Garg C, Garg M. Oxidants, Oxidative Stress and Role of Phytoantioxidants as Photoprotectives: A Review. *Indian J Nat Prod*. 2019;33(1):2-17.
- Pouillot, A., Polla, L.L., Tacchini, P., Neequaye, A., Polla, A. and Polla, B. Natural Antioxidants and their Effects on the Skin. In: N. Dayan and L. Kromidas, editors. *Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products*. Wiley; 2011. p. 239-57.
- Kusumawati I, Indrayanto G. Chapter 15 - Natural Antioxidants in Cosmetics. In: Atta ur R, editor. *Studies in Natural Products Chemistry*. 40: Elsevier; 2013. p. 485-505.
- Bogdan Allemann I, Baumann L. Antioxidants used in skin care formulations. *Skin Therapy Lett*. 2008;13(7):5-9.
- Zillich OV, Schweiggert-Weisz U, Eisner P, Kerscher M. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*. 2015;37(5):455-64.
- Dunaway S, Odin R, Zhou L, Ji L, Zhang Y, Kadekaro AL. Natural Antioxidants: Multiple Mechanisms to Protect Skin From Solar Radiation. *Front Pharmacol*. 2018;9:392.
- Nichols JA, Katiyar SK. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res*. 2010;302(2):71-83.
- Silva S, Michniak-Kohn B, Leonardi GR. An overview about oxidation in clinical practice of skin aging. *An Bras Dermatol*. 2017;92(3):367-74.
- Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*. 2015;5(2):545-89.
- Skoczyńska A, Budzisz E, Trznadel-Grodzka E, Rotsztejn H. Melanin and lipofuscin as hallmarks of skin aging. *Postepy Dermatol Alergol*. 2017;34(2):97-103.
- Höhn A, Grune T. Lipofuscin: formation, effects and role of macroautophagy. *Redox Biol*. 2013;1(1):140-4.
- Reeg S, Grune T. Protein Oxidation in Toxicology. In: Roberts SM, Kehler JP, Klotz L-O, editors. *Studies on Experimental Toxicology and Pharmacology*. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 81-102.
- Figuerola-Espinoza MC, Villeneuve P. Phenolic acids enzymatic lipophilization. *J Agric Food Chem*. 2005;53(8):2779-87.
- Ratz-Lyko A, Arct J, Majewski S, Pytkowska K. Influence of polyphenols on the physiological processes in the skin. *Phytother Res*. 2015;29(4):509-17.
- Brewer MS. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2011;10(4):221-47.
- Khan MK, Paniwnyk L, Hassan S. Polyphenols as Natural Antioxidants: Sources, Extraction and Applications in Food, Cosmetics and Drugs. In: Li Y, Chemat F, editors. *Plant Based "Green Chemistry 20": Moving from Evolutionary to Revolutionary*. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 197-235.
- Pratt DE. Natural Antioxidants from Plant Material. Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II. ACS Symposium Series. 507: American Chemical Society; 1992. p. 54-71.
- Adamska-Szewczyk A, Zgórk G. Plant polyphenols in cosmetics - a review. *European Journal of Medical Technologies*. 2019;3(1)-10.
- Liu D, Li Y, Qian Y, Xiao Y, Du S, Qiu X. Synergistic Antioxidant Performance of Lignin and Quercetin Mixtures. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2017;5(9):8424-8.
- Qian Y, Qiu X, Zhu S. Sunscreen Performance of Lignin from Different Technical Resources and Their General Synergistic Effect with Synthetic Sunscreens. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2016;4(7):4029-35.
- Vaid M, Sharma SD, Katiyar SK. Honokiol, a phytochemical from the Magnolia plant, inhibits photocarcinogenesis by targeting UVB-induced inflammatory mediators and cell cycle regulators: development of topical formulation. *Carcinogenesis*. 2010;31(11):2004-11.
- Montaño I, Schmid D. Magnolia Derived Honokiol and Magnolol Fight Against Skin Inflamm' Aging. *Mibelle Biochemistry*. 2010.
- Huang HC, Hsieh WY, Niu YL, Chang TM. Inhibition of melanogenesis and antioxidant properties of Magnolia grandiflora L. flower extract. *BMC Complement Altern Med*. 2012;12:72.
- Ranouille E, Boutot C, Bony E, Bombarde O, Grosjean S, Lazewski A, et al. Schisandra chinensis Protects the Skin from Global Pollution by Inflammatory and Redox Balance Pathway Modulations: An In Vitro Study. *Cosmetics*. 2018;5(2):36.
- Grassmann J. Terpenoids as plant antioxidants. *Vitam Horm*. 2005;72:505-35.
- Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*. 2009;14(1):540-54.
- Micera M, Botto A, Geddo F, Antoniotti S, Bertea CM, Levi R, et al. Squalene: More than a Step toward Sterols. *Antioxidants*. 2020;9(8):688.



ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL RASTLINSKIH IZVLEČKOV, PRIDOBLENIH S SUBKRITIČNO VODO

ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF PLANT EXTRACTS OBTAINED WITH SUBCRITICAL WATER

AVTORJA / AUTHORS:

asist. Katja Schoss, mag. ind. farm.¹
izr. prof. dr. Janez Mravljak, mag. farm.²

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko kemijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: katja.schoss@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Radikali so del našega vsakdana, ki se mu ne moremo izogniti, a so ob povečani tvorbi škodljivi za naše zdravje. Zato je človeško telo razvilo kompleksen sistem encimskih in neencimskih antioksidativnih zaščitnih mehanizmov za preprečevanje škodljivih učinkov radikalov. Žal tudi ta sistem lahko podleže oksidativnemu stresu, učinke le-tega pa lahko omilimo z dodatnim vnosom antioksidantov. Ti so postali nepogrešljiva skupina prehranskih dopolnil in aditivov živil, rastlinska hrana pa je njihov velik potencialni vir. Eden izmed možnih načinov pridobivanja rastlinskih antioksidantov je ekstrakcija s subkritično vodo. Subkritična voda ima v primerjavi z vodo pri normalnih razmerah posebne lastnosti, kot so manjša dielektrična konstanta, manjša gostota, nižja površinska napetost in večja ionizacijska konstanta, kar deluje v korist boljšim izplenom ekstrahiranih ter pogosto tudi večji antioksidativni aktivnosti izvlečkov. V članku predstavljamo raziskave zadnjih petih let, ki so vrednotile antioksidativno aktivnost izvlečkov, pridobljenih s subkritično vodo.

KLJUČNE BESEDE:

antioksidanti, ekstrakcija, rastlinski izvlečki, subkritična voda

ABSTRACT

Free radicals are a part of our everyday life that we cannot avoid, but are harmful to our health in cases of increased production. Thus, the human body has developed a complex system of enzymatic and non-enzymatic antioxidant defence mechanisms to prevent the harmful effects of free radicals. Unfortunately, this system can also be subject to excessive oxidative stress, and its effects can be mitigated by additional *per os* intake of antioxidants. These have become a desirable group of dietary supplements and food additives. Plant foods are a rich potential source of these antioxidants. One of the possible ways of obtaining plant antioxidants is extraction with subcritical water. Subcritical water has special properties in comparison to water under normal conditions, such as lower dielectric constant, lower density, lower surface tension and higher ionization constant. All this works in favour of better extraction efficiency and in many cases higher an-

tioxidative activity of extracts. In this paper, we present studies of the last five years that evaluated the antioxidative activity of extracts obtained with subcritical water.

KEY WORDS:

antioxidants, extraction, plant extracts, subcritical water

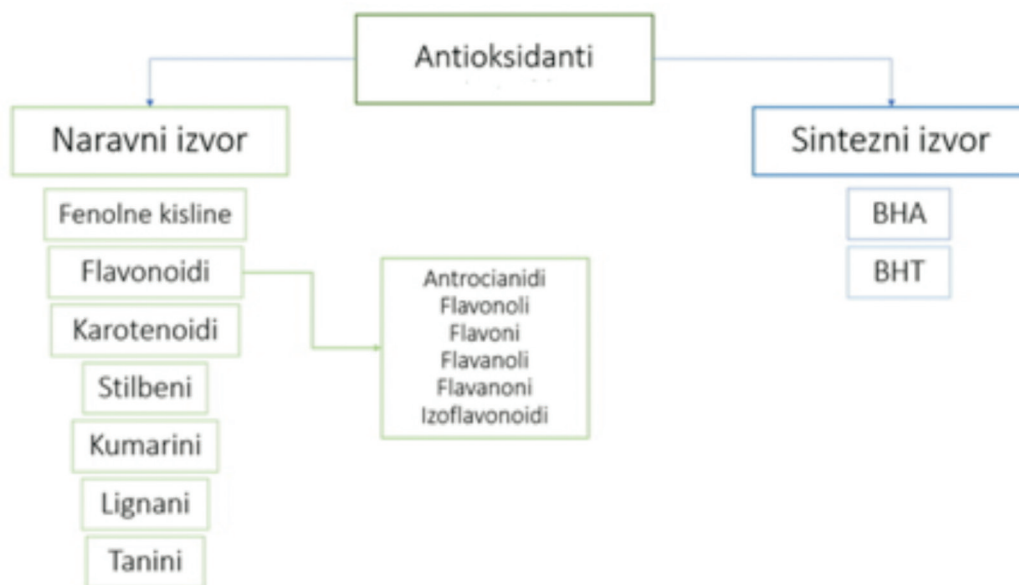
1 RADIKALI, ANTIOKSIDANTI IN ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

Radikali so prisotni vsepovsod v naravi in konstantno nastajajo v naši okolici ter v našem telesu. V telesu imajo dvojno vlogo: pri določenih procesih so koristni in nena-domestljivi, hkrati pa so lahko tudi nevarni – ob preveliki količini ter če se pojavljajo tam, kjer to ni potrebno. Kemijsko gledano so radikali atomi, ioni ali nevtralne spojine, ki imajo vsaj en nesparjen elektron v zunanji (valenčni) orbitali, zaradi katerega običajno zelo hitro reagirajo s snovmi v svoji okolici in imajo kot posamezne molekule kratko življenjsko dobo (1). Najpogostejši so kisikovi, dušikovi in žveplovski radikali. V telesu nastajajo na različnih ravneh, kot normalni del presnove v mitohondrijih, preko ksantin oksida-

daze, peroksisomov, fagocitoze, vnetnih procesov in telesne vadbe. Poznamo tudi zunanje dejavnike, ki spodbujajo nastajanje radikalov, kot so npr. ionizirajoče sevanje, ozon, pesticidi, toksična organska topila, zdravila, kajenje in čezmerna fizični ali psihični stres (2).

Človeško telo ima kompleksen sistem encimskih in neencimskih antioksidativnih zaščitnih mehanizmov za preprečevanje škodljivih učinkov radikalov, ki so lahko vzrok za pospešeno staranje, nastanek nekaterih bolezni (npr. sevna bolezen) oz. so spremljevalci bolezni (malaria, srčno-žilne bolezni, sladkorna bolezen itd.) (2). Odstranjevanje predvsem reaktivnih kisikovih spojin iz človeškega telesa lahko pomaga preprečiti ali zmanjšati pojavnost teh bolezni ter tako prispeva k boljši kakovosti življenja. Zaščito pred radikali je med drugim mogoče okrepiti z vnosom prehranskih antioksidantov (1,2).

Antioksidant je *in vivo* katera koli snov, ki upočasnjuje, prepreči ali odstrani oksidativno poškodbo ciljne molekule (3). Alternativna definicija je »snov, ki reagira z oksidantom, da uravnava njegove reakcije z drugimi tarčami in tako vpliva na redoks odvisne biološke signalne poti in/ali oksidativne poškodbe«. Univerzalnega oz. najboljšega antioksidanta ni: različni antioksidanti reagirajo z različnimi radikali s spremenljivo hitrostjo, delujejo na različnih lokacijah in ščitijo različne tarče (3). Antioksidativni učinek je določen z vrsto antioksidanta, z njegovim mehanizmom delovanja, sodelovanjem z drugimi antioksidanti in v primeru vnosa zunanjih



Slika 1: Razdelitev antioksidantov glede na naravni in sintezni izvor.

Figure 1: Classification of antioxidants according to their natural and synthetic origin.



antioksidantov še z njihovo absorpcijo v prebavilih, odmerkom, pogostostjo vnosa v telo, presnovo in izločanjem iz telesa (1).

Antioksidanti so zelo heterogena skupina snovi in jih delimo po različnih kriterijih: glede na izvor, strukturo, fizikalno-kemijske lastnosti, mehanizem delovanja in glede na možnost obnavljanja. Glede na delovanje jih v grobem delimo na reducente oz. prave antioksidante, ki v reakcijah z radikali nudijo vodikov atom ali elektron, da se reaktivni radikal pretvori v manj reaktiven radikal ali nereaktiven produkt. Kelatorji oz. posredni antioksidanti pa reagirajo z radikali tako, da vežejo kovinske ione bakra in železa ter s tem preprečijo, da bi ti ioni katalizirali radikalske reakcije. Rastlinski antioksidanti, ki so eksogenega izvora, spadajo v prvo skupino (1). Slika 1 prikazuje razdelitev antioksidantov glede na izvor in strukturo.

V zadnjih letih se je povečalo zanimanje za raziskovanje antioksidantov naravnega izvora, zlasti v prehrani, na področju prehranskih dopolnil, in v kozmetični industriji. Poleg antioksidativne aktivnosti pa so za antioksidante kot prehranske sestavine pomembne tudi druge lastnosti, npr. nespecifičen vonj, barva in okus, topnost, stabilnost, varnost ter cena (4).

2 RASTLINSKI IZVLEČKI KOT ANTIOKSIDANTI

Rastline so pomemben vir naravnih antioksidantov, ki jih v grobem delimo v tri različne skupine, med vitamine (vitamin C, vitamin E oz. tokoferoli), karotenoide (okoli 600 spojin) in polifenole (okoli 6000 spojin), ki sodijo med fenolne spojine in so glavni viri rastlinskih antioksidantov (1).

2.1 POLIFENOLI

Polifenoli so skupina sekundarnih metabolitov v rastlinskem svetu, ki imajo zelo različne funkcije, od barvil v listih, cvetovih in plodovih do antioksidativnega, protimikrobnega in protiglavnega delovanja ter zaščite pred UV-sevanjem (3). Znanih je več kot 10.000 različnih spojin, vključno s flavonoidi, stilbeni in lignani, v to široko skupino pa po definiciji spada vsaka spojina, ki ima več hidroksilnih (-OH) skupin na benzenovem obroču (1).

Čeprav pogosto priporočajo uživanje nekaterih rastlin le na podlagi odlične antioksidativne aktivnosti njihovih izvlečkov *in vitro*, pa so si mnenja o učinkovitosti polifenolov

v telesu zaradi slabe biološke absorpcije različna. V večini primerov se polifenoli v prebavilih absorbirajo v majhni meri, absorpcija pa je odvisna tudi od posameznika ter od vrste zaužite spojine. Nekateri so mnenja, da po zaužitju polifenolov absorpcijo iz črevesja dokazuje posledično povečana antioksidativna sposobnost plazme (2), vendar pa je izmerjena koncentracija antocianina (0,03 μM) in galne kisline (4 μM) nizka (1). Obseg in hitrost absorpcije polifenolov v črevesju sta povezani z njihovo kemijsko strukturo, polifenolne oblike, ki so prisotne v človeških tkivih in krvi, pa se zaradi metaboliziranja v jetrih (-OH skupine se konjugirajo s sulfatom, glukuronsko kislino ali pa se metilirajo) razlikujejo od tistih v živilih, kar otežuje identifikacijo vseh metabolitov in oceno njihove biološke aktivnosti (1, 2). Kljub temu je splošno sprejeto, da polifenoli ugodno vplivajo na fiziološke procese v prebavilih, kjer so lokalne koncentracije antioksidantov precej višje od tistih v plazmi (10 do več 100 μM) (1). Situacija *in vivo* je verjetno drugačna, saj obstajajo raziskave, ki so potrdile povezavo med zmanjšano pojavnostjo npr. srčno-žilnih bolezni in uživanjem polifenolov, nekatere raziskave pa povezave niso potrdile. Polifenoli pa lahko sprožijo zvišanje endogenih antioksidativnih encimov *in vivo* in na ta način izkazujejo posredno antioksidativno delovanje (4).

2.2 KAROTENOIDI

V hrani prisotni karotenoidi se v naših prebavilih absorbirajo, kar se pri mnogih sesalcih ne zgodi. Absorpcija karotenoidov je sicer nepopolna in odvisna od vrste ter priprave, za boljšo absorpcijo pa je treba sočasno uživati lipide. Karotenoide, ki v molekuli vsebujejo kisik, poznamo kot ksantofile (lutein), tiste brez kisika pa kot karotene (alfa-karoten, likopen). V rastlinah so karotenoidi pomembni antioksidanti, ki odstranjujejo singletni kisik in preprečujejo njegovo nastajanje v procesu fotosinteze. V živalskih sistemih njihove antioksidativne vloge še ne poznamo dovolj, ne moremo pa je zanikati (1).

3 TESTI ZA UGOTAVLJANJE VSEBNOSTI KOMPONENT Z ANTIOKSIDATIVNIMI LASTNOSTMI

Aktivnosti antioksidantov so odvisne od strukturnih značilnosti molekule ter od dejavnikov, kot so koncentracija, temperatura, svetloba, vrsta substrata, fizikalno stanje antioksidantov v sistemu ter celotna sestava izvlečka (2).

Ugotavljanje antioksidativnih lastnosti rastlinskih izvlečkov in spojin zahteva ustrezne metode, ki obravnavajo mehanizem antioksidativnega delovanja in se osredotočajo na kinetiko reakcij. Metode, ki temeljijo na inhibiciji avtooksidacije, so najbolj primerne za antioksidante, ki pospešujejo prekinitve oksidacije (*termination-enhancing*), in za antioksidante, ki prekinjajo verigo oksidacije (*chain-breaking*), medtem ko so za preventivne antioksidante (kelatorje kovinskih ionov) potrebne specifične raziskave. Na voljo imamo široko paleto spektrofotometričnih testov za ugotavljanje antioksidativne aktivnosti živil in farmacevtskih izdelkov, ni pa standardizirane metode, s katero bi ugotavljali raven antioksidantov neposredno iz rastlinskih materialov, izvlečkov hrane in bioloških vzorcev (2).

Najpogostejši testi *in vitro* za vrednotenje vsebnosti oz. antioksidativne aktivnosti komponent, so (2):

- test ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat),
- test DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil),
- test antioksidativne moči redukcije železovih ionov (Fe^{3+} – Fe^{2+}) (*ferric reducing antioxidant power* – FRAP),
- test antioksidativne kapacitete redukcije bakrovih(II) ionov (Cu^{2+} *reducing power* – CUPRAC),
- ocena celokupne antioksidativne kapacitete s fosfomolibdenskim testom (*phosphomolybdenum total antioxidant activity assay* – PM),
- test Folin–Ciocalteu (FC),
- test peroksilnega radikala (ROO^{\bullet}) (*peroxyl radical assay*),
- test superoksidnega radikala aniona ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (test ORAC, *superoxide radical anion assay*),
- test odstranjevanja vodikovega peroksida (H_2O_2) (*hydrogen peroxide scavenging assay*),
- test odstranjevanja hidroksilnih radikalov (OH^{\bullet}) (*hydroxyl radical scavenging assay*),
- test odstranjevanja singletnega kisika ($^1\text{O}_2$) (*singlet oxygen quenching assay*),
- test odstranjevanja dušikovega oksida (NO^{\bullet}) (*nitric oxide radical scavenging assay*),
- kemiluminiscenčni test (*chemiluminescence assay*),
- inhibicija lipidne peroksidacije v sistemu linolne kisline (*inhibition of lipid peroxidation in linoleic acid system*),
- celokupni antioksidativni kazalnik lovljenja radikalov (*total radical-trapping antioxidant parameter* – TRAP),
- test DMPD (*N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamin),
- test vsebnosti flavonoidov (TFC),
- test vsebnosti antocianinov.

Večina navedenih testov uporablja isti princip, in sicer redukcijo obarvanega radikala ali redoks aktivne spojine. Antioksidativno aktivnost vrednotimo preko sposobnosti bio-

loškega vzorca, da reducira radikal ali redoks aktivno spojino, kar spremljamo s spektrofotometrom z uporabo ustreznega standarda za kvantificiranje antioksidativne aktivnosti (2).

4 EKSTRAKCIJA S SUBKRITIČNO VODO

Subkritično stanje tekočine pomeni, da je spojina segreta na temperaturo, pri kateri bi snov ob normalnem atmosferskem tlaku morala preiti v plinasto stanje, vendar je tlak povečan do te mere, da je fazni prehod onemogočen in tekočina ostaja v subkritičnem – tekočem stanju (5). Čeprav je v subkritičnem stanju možno uporabljati več toplil, zaradi okoljske sprejemljivosti in varnosti največkrat uporabljamo vodo (6, 7), ki se jo kot ekstrakcijsko topilo uporablja pri temperaturah med 100 °C in 374 °C. Lastnosti vode se v subkritičnem stanju izrazito spremenijo, zaradi česar postane zanimiva tudi za ekstrakcijo manj polarnih snovi (5, 8, 9). Najpomembnejša sprememba je, da se znižata njena dielektrična konstanta in s tem polarnost; podrobnosti so opisane v nedavno objavljenem preglednem članku (10). Večina raziskav o ekstrakciji s subkritično vodo (SWE) so raziskave o ekstrakciji antioksidantov, npr. polifenolnih spojin iz najrazličnejših virov in (zaradi različne stabilnosti polifenolov) pri različnih ekstrakcijskih razmerah, hkrati pa je ponavadi izdelan še primerjalni izvleček, npr. z maceracijo v različnih topilih, Soxhletovo ekstrakcijo, ekstrakcijo z vročo vodo (*hot water extraction* – HWE), ultrazvočno ekstrakcijo (*ultrasonic assisted extraction* – UAE) in ekstrakcijo s pomočjo mikrovalov (*microwave assisted extraction* – MAE) (8).

Antioksidativna aktivnost izvlečkov se z višanjem temperature ekstrakcije lahko viša (ali nižja) zaradi več razlogov. Ekstrakcija lahko pri povišani temperaturi poteka bolje, hkrati pa lahko pride tudi do nastanka novih antioksidantov s pospeševanjem kemijskih reakcij, kar je lahko želeno ali neželeno. Če je ekstrakcija namenjena pridobivanju novih antioksidativno aktivnih spojin, je pojav pozitiven, če pa želimo zgolj povečati izplen ekstrakcije izvlečka, ki bo po sestavi primerljiv klasičnemu (tj. pridobljenem pri nižji temperaturi), pa je sprememba neželena. Do tvorbe novih antioksidantov prihaja zaradi hidrolitične (pod vplivom visoke temperature in vode) razgradnje rastlinskih metabolitov in drugih možnih reakcij pri višjih temperaturah (Maillardova reakcija in karamelizacija). Ekstrakcija in razgradnja pogosto



potekata hkrati (11). Zaradi tega je natančno proučevanje hitrosti ekstrakcije in razgradnje spojin med SWE koristno za določitev najboljših ekstrakcijskih pogojev.

5 ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST IZVLEČKOV, PRIDOBLENIH S SUBKRITIČNO VODO

V tem poglavju obravnavamo raziskave zadnjih petih let (2017–2022), kjer je bila glavna naloga raziskati antioksidativno aktivnost izvlečkov, pridobljenih s subkritično vodo. Pri tem se v okviru optimizacije ekstrakcijskih razmer največkrat pojavljajo variacije temperature, časa in razmerja med rastlinsko drogo ter topilom (preglednica 1).

Antioksidativno aktivnost so najbolj raziskali pri rastlinah, bogatih s polifenoli (najpogosteje fenolne kisline, flavonoidi in antocianini), pri čemer so za njeno vrednotenje najpogosteje uporabili teste DPPH, ABTS in FC. Poudariti moramo, da neposredna primerjava rezultatov med raziskavami žal ni mogoča predvsem zaradi naslednjih razlogov: testi so izvedeni na različne načine, rezultati so podani na različne načine (npr. na ekvivalente različnih antioksidantov, kot so galna kislina, kvercetin, katehin, klorogenska kislina, rutin in Trolox, na izvleček s topilom, na maso suhega izvlečka ali suhe rastlinske droge), razlikujejo pa se tudi glede na vrsto izvlečka.

Pri SWE ostanke zeli navadnega rmana (*Achillea millefolium*), pridobljenih kot odpadni produkt industrije čajev, kjer so variirali temperaturo, čas in količino HCl, so Vladić in sod. (12) ugotovili, da se je največja količina polifenolov ekstrahirala z 20-minutno ekstrakcijo pri 200 °C in brez uporabe HCl. Vsebnost flavonoidov je bila najvišja po 20-minutni ekstrakciji pri 120 °C, prav tako brez uporabe HCl, najvišja antioksidativna aktivnost (ugotovljena s testom ABTS) pa je bila v izvlečkih, ki so jih pridobili z desetminutno ekstrakcijo pri 200 °C in z uporabo HCl (0,75 %).

Benito-Román in sod. (13) so proučevali antioksidativno aktivnost izvlečkov SWE suhih luskolistov čebule (*Allium cepa*) v primerjavi z etanolno ekstrakcijo s pomočjo testov FC, TFC in FRAP. Ugotovili so, da se antioksidativna aktivnost zvišuje z daljšanjem časa ekstrakcije do 80 min pri 150 °C, nato pa ostaja enaka do 180 min. Antioksidativna aktivnost izvlečkov, pridobljenih z ekstrakcijo pri različnih temperaturah, se je večala z naraščanjem temperature od 105 do 180 °C.

Cvetanović in sod. (14) so proučevali antioksidativno aktivnost (testi FC, TFC, ABTS, DPPH in inhibicija lipidne pe-

roksidacije v sistemu linolne kisline) izvlečkov SWE iz plov, listov in stebel aronije (*Aronia melanocarpa*), pridobljenih pri 130 °C, 20 min in 35 bar, brez kontrole. Ugotovili so, da so imeli izvlečki dobre antioksidativne lastnosti, Švarc-Gajić in sod. (15) pa so proučevali zgolj antioksidativno aktivnost izvlečkov SWE stebel aronije, ki so prav tako izkazali dobre antioksidativne lastnosti.

Pinto in sod. (16) so proučevali ekstrakte SWE iz lupin navadnega kostanja z variacijo časa in temperature ekstrakcije. Pri različnih antioksidativnih testih so dobili rahlo različne rezultate: test ABTS je pokazal najvišjo aktivnost ekstrakta, pridobljenega s 30-minutno ekstrakcijo pri 220 °C, testi FRAP, FC in DPPH pa so pokazali najvišjo aktivnost ekstrakta, pridobljenega z 20-minutno ekstrakcijo pri 249 °C.

Izvečke SWE pri temperaturah 110–230 °C in izvleček HWE vrste zelene alge *Caulerpa racemosa* in morske solate (*Ulva lactuca*) so proučevali Pangestuti in sod. (17). Poleg višjega izplena so s SWE pridobili tudi več polifenolov (ugotovljeno s testom FC), flavonoidov (ugotovljeno s testom TFC) in antioksidantov (ugotovljeno s testom ABTS). Z višanjem temperature SWE (110–190 °C) se je višala koncentracija polifenolov in flavonoidov v ekstraktu. Rezultati testa ABTS in celokupni antioksidanti so se zvišali v vseh izvlečkih SWE, tudi pri 230 °C.

Antioksidativno aktivnost manana iz semen arabskega kavovca (*Coffea arabica*) so proučevali Getachew (18) in sod. Osnovne ekstrakte so pridobili s Soxhletovo ekstrakcijo s heksanom, nato pa so jih tretirali s subkritično vodo (180–220 °C, 30–60 bar). Modificirani ekstrakti so se s testi ABTS, DPPH, FRAP in PM v vseh poskusih izkazali za bolj antioksidativno aktivne.

Učinkovitost subkritične ekstrakcije z vodo so na pravi kamilici (*Matricaria chamomilla*) v dveh raziskavah proučevali Cvetanović in sod. Menijo, da so polifenoli, natančneje flavonoidi, najbolj odgovorni za visoko antioksidativno delovanje ekstrakta kamilice. Najpogostejše metode ekstrakcije za izolacijo fenolnih spojin iz kamilice vključujejo običajne ekstrakcijske tehnike z uporabo etanola kot topila. V raziskavi (19) so variirali temperaturo ekstrakcije (30 min, 45 bar, 65–210 °C) in nato s testi inhibicije lipidne peroksidacije v sistemu linolne kisline, DPPH, ABTS in s testom odstranjevanja hidroksilnih radikalov ugotovili, da je ekstrakcija pri temperaturah nad 150 °C privedla do izboljšane antioksidativne aktivnosti ekstraktov v primerjavi z nižjimi temperaturami. V drugi raziskavi (20) so proučevali odvisnost ekstrakcije od tlaka (30 min, 100 °C, tlak: 10, 30, 45, 60 in 90 bar) in primerjali antioksidativno aktivnost pridobljenih ekstraktov s testi DPPH, ABTS, FRAP in testom odstra-

Preglednica 1: Pregled raziskav in vitro, ki so glede na antioksidativno aktivnost vrednotile izvlečke, pridobljene s subkritično vodo. Navedene so tudi uporabljene metode ekstrakcij, parametri ekstrakcij ter testi, ki so jih uporabili za vrednotenje izvlečkov.

Table 1: Overview of studies that evaluated subcritical water extracts based on their antioxidant activity, including extraction methods, extraction parameters and tests for extract evaluation.

Latinsko ime Slovensko ime Del rastline	Metode ekstrakcije	Parametri ekstrakcije*	Testi	Vir
<i>Achillea millefolium</i> Navadni rman Zel kot ostanek v čajnih vrečkah	SWE	120–200 °C, 10–30 min, HCl 0–1,5 %, konst. tlak 30 bar	FC, TFC, ABTS	(12)
<i>Allium cepa</i> Čebula Suhi luskolisti	SWE	105–180 °C, 0–180 min	FC, TFC, FRAP	(13)
	Etanolna ekstrakcija	37 °C, 60 min, 70- odstotni etanol		
<i>Aronia melanocarpa</i> Aronija Plod, list, steblo	SWE	130 °C, 20 min, 35 bar	FC, TFC, ABTS, DPPH, inhibicija lipidne peroksidacije v sistemu linolne kisline	(14)
<i>Aronia melanocarpa</i> Aronija Steblo	SWE	130 °C, 20 min, 35 bar, 1 : 20	DPPH, FRAP	(15)
<i>Castanea sativa</i> Navadni kostanj Lupine	SWE	51–249 °C, 6–34 min, 40 bar, 1 : 10	ABTS, FRAP, DPPH, FC, test superoksidnega radikala aniona, test odstranjevanja vodikovega peroksida, test odstranjevanja hidroksilnih radikalov	(16)
<i>Caulerpa racemosa</i> Vrsta zelene alge Steljka in <i>Ulva lactuca</i> Morska solata Steljka	SWE	110–230 °C, 10 min, 1 : 40	FC, TFC, ABTS	(17)
	HWE	100 °C, 2 h, 1 : 40		
<i>Coffea arabica</i> Arabski kavovec Seme	SWE po Soxhletovi ekstrakciji s heksanom	180–220 °C, 30–60 bar	ABTS, DPPH, FRAP, PM	(18)
<i>Matricaria chamomilla</i> Prava kamilica Cvet	SWE	65–210 °C, 30 min, 45 bar	inhibicija lipidne peroksidacije, DPPH, test odstranjevanja hidroksilnih radikalov, ABTS	(19)
	SWE	100 °C, 30 min, tlak: 10, 30–90 bar	DPPH, ABTS, FRAP, test odstranjevanja hidroksilnih radikalov	(20)
<i>Chlorella</i> sp. Alga klorela Steljka	SWE	100–250 °C, 5–20 min	FC, DPPH	(21)



<i>Citrus unshiu</i> Mandarina unshiu Lupina plodu	SWE	145–175 °C, 15 min, 0,75–2,25 mL/min, 5 mPa	DPPH, FRAP, ORAC	(22)
	Metanolna ekstrakcija	sobna temperatura, 30 min, 1 : 30		
<i>Fagopyrum esculentum</i> Navadna ajda List	SWE	100–220 °C, 10–50 min	FC, TFC, DPPH, FRAP	(23)
<i>Fagopyrum tataricum</i> Tatarska ajda Lupina plodu (24), seme (25)	SWE	220 °C, 60 min, 1 : 60	FC, ABTS, FRAP, TEAC	(24) (25)
	UAE	50 °C, 20 min, 1 : 60		
	HWE	80 °C, 60 min, 1 : 60		
	UAE-SWE	UAE (50 °C)-SWE (220 °C), UAE (20 min)-SWE (60 min), 1 : 60		
<i>Lavatera thuringiaca</i> Turingijski oslez Zel	Etanolna ekstrakcija (Soxhlet)	22 °C, 8 h, 1 : 8, 96-odstotni etanol	FC, TFC, test vsebnosti antocianinov, PM, test peroksilnega radikala, test odstranjevanja hidroksilnih radikalov, DPPH	(26)
	Etanolna ekstrakcija (maceracija)	22 °C, 7 dni, 1 : 30, 96-odstotni etanol		
	Etanolna UAE	22 °C, 30 min, 1 : 20		
	Etanolna MAE	30 min, 1 : 20, 600 W		
	SWE	140 °C, 40 bar, 1 : 20		
<i>Lycium ruthenicum</i> Črna goji jagoda Plod	SWE	110–170 °C, 30–90 min, 1–3 min/L	Test vsebnosti antocianinov, DPPH, ABTS	(27)
	HWE	70 °C, 90 min, 1 : 15, 150 W		
	Metanolna ekstrakcija	70 °C, 90 min, 1 : 15, 150 W, 50-odstotni metanol		
<i>Orostachys japonicus</i> Japonski orostahis Zel	SWE	110–260 °C, 5–20 min	FC, DPPH, ABTS, FRAP	(28)
<i>Pistacia vera</i> Pistacija Seme	SWE	110–190 °C, 1 : 60, 5–50 min	FC, ABTS, DPPH, FRAP	(29)
	UAE	metanol/voda/mravljina kislina (80/19/1), 1 : 60	DPPH, FC	(30)
	SWE	140–220 °C, 6,5–15,5 MPa, 0–95-odstotni etanol		

<i>Pseuderanthemum palatiferum</i> / List	Metanolna ekstrakcija	25 °C, 19 h, 1 : 100	FC, TFC, DPPH, FRAP, ABTS	(31)
	Soxhletova ekstrakcija	7 h, 1 : 70, 70-odstotni etanol		
	HWE	80 °C, 30 min, 1 : 25		
	SWE	110–270 °C, 15 min, 1 : 70, 80 bar		
<i>Quercus suber</i> Hrast plutovec Pluta	SWE	120–200 °C, do 30 min, 10 mL/min, 100 bar,	FC, DPPH	(32)
<i>Sagittaria sagittifolia</i> Navadna streluša Zel	HWE	100 °C, 120 min	DPPH, ABTS, FRAP	(33)
	SWE	150–190 °C, 12–20 min, 1 : 20 do 1 : 40, pH 7–9		
<i>Sesamum indicum</i> Sezam Predhodno stisnjena semena	SWE	140–220 °C, 8–14 MPa, 0–95-odstotni	FC, DPPH, TFC, ABTS	(34)
<i>Sorghum bicolor</i> Navadni sirek Žitno zrno	HWE	95 °C, 5–40 min, 1 : 10 do 1 : 50	FC, ABTS, DPPH,	(35)
	SWE	110–190 °C, 5–40 min, 1 : 10 do 1 : 50		
<i>Symphytum officinale</i> Navadni gabez Korenina	SWE	120–200 °C, 10–30 min, 0–1,5-odstotna HCl, 30 bar	FC, DPPH, TFC	(36)
	Metanolna maceracija	25 °C, 48 h, 1 : 10, 50-odstotni metanol		
	Etanolna maceracija	25 °C, 48 h, 1 : 10, 50-odstotni etanol		
	Metanolna UAE	30 °C, 40 min, 1 : 10, 40 kHz, 50-odstotni metanol		
	Etanolna UAE	30 °C, 40 min, 1 : 10, 40 kHz, 50-odstotni etanol		
<i>Theobroma cacao</i> Kakavovec Lupine kakavovih semen	SWE	120–220 °C, 15–75 min, 1 : 10 do 1 : 30	DPPH, FC	(37)
<i>Vitis vinifera</i> Vinska trta Rozga	SWE	125 °C in 250 °C, 50 min, 1 : 10	FC, FRAP, DPPH, TFC	(38)
<i>Withania somnifera</i> Vitaniija Zel	SWE	100–200 °C, 10–30 min, 10 MPa	FC, DPPH, FRAP, ABTS	(39)
	Topilo	40 °C, 12 h, 1 : 10		
	SE (Soxhlet)	60 °C, 7 h, 1 : 10, 80- odstotni etanol		
	MAE	60 °C, 20 min, 1 : 10, 80- odstotni metanol, 150 W		

/ Slovensko ime rastline ne obstaja.

* Razmerja 1 : X so podana kot razmerja med maso droge in topila.

njevanja hidroksilnih radikalov. Ugotovili so, da je ekstrakt, pridobljen pri 45 bar, izkazoval najvišjo antioksidativno aktivnost pri testih ABTS in DPPH, najvišji rezultat za test odstranjevanja hidroksilnih radikalov pa je dal ekstrakt, pridobljen pri 30 bar. Pri vseh testih so najnižje aktivnosti izkazovali ekstrakti, ki so jih ekstrahirali pri najnižjem tlaku 10 bar.

Zakaria in sod. (21) so antioksidativno aktivnost ugotavljali v izvlečkih SWE (100–250 °C, čas 5–20 min) alge klorela (*Chlorella* sp.). Najboljšo antioksidativno aktivnost (ugotovljeno s testoma FC in DPPH) je imel izvleček, pridobljen s petminutno ekstrakcijo pri 163 °C.

Kim in sod. (22) so proučevali možnost ekstrakcije flavonoidov in antioksidativno aktivnost v izvlečkih SWE iz lupin plodov citrusa unshiu (*Citrus unshiu*). Variirali so temperaturo ekstrakcije (145–175 °C) in pretok topila (0,75–2,25 mL/min), za primerjavo pa so naredili še metanolni izvleček. Optimalne ekstrakcijske pogoje, ki so rezultirali v ekstraktih z največjo antioksidativno aktivnostjo, so dosegli pri temperaturi 160 °C in pretoku 2,25 mL/min ter pri 175 °C in 1,5 mL/min.

Antioksidativno aktivnost izvlečkov SWE (100–220 °C, 10–50 min) navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*) so proučevali Kim in sod. (23), ki so primerjali vsebnosti flavonoidov in izvedli teste FC, DPPH ter FRAP. Količina flavonoidov in polifenolov v ekstraktih je s temperaturo ekstrakcije naraščala do 180 °C ter nato začela padati (180–220 °C), pri daljšanju časa ekstrakcije od 10 do 50 min pa je padala.

Antioksidativno aktivnost izvlečkov SWE tatarske ajde (*Fagopyrum tataricum*) v primerjavi z drugimi izvlečki (preglednica 1) so Dzah in sod. (24, 25) proučevali v dveh raziskavah s testi FC, ABTS, FRAP in TEAC. V prvi raziskavi je bila glede antioksidativne aktivnosti vodilna ekstrakcija UAE-SWE, sledila je SWE in nato UAE ter HWE, v drugi raziskavi pa se je kot najboljši izkazal ekstrakt, pridobljen s SWE.

Mašković in sod. (26) so glede na antioksidativno aktivnost (testirano s FC, TFC, z vsebnostjo antocianinov, PM, inhibicijo lipidne peroksidacije v sistemu linolne kisline, testom odstranjevanja hidroksilnih radikalov ter z DPPH) primerjali različne ekstrakte (preglednica 1) turingijskega osleza (*Lavatera thuringiaca*). Pri testu PM je po antioksidativni aktivnosti izstopal ekstrakt, pridobljen s SWE, z drugimi testi pa niso potrdili superiornosti SWE.

Wang in sod. (27) so proučevali izvlečke, pridobljene iz plodov črne goji jagode (*Lycium ruthenicum*), kjer so primerjali SWE, HWE in metanolno ekstrakcijo glede na vsebnost antocianinov ter antioksidativno aktivnost ekstraktov s testoma DPPH in ABTS. Z optimizirano SWE (55 °C,

55 min, pretok topila 3 mL/min) so ekstrahirali največ antocianinov in pridobili ekstrakt z največjo antioksidativno aktivnostjo.

Ko in sod. (28) so proučevali izvlečke SWE kaktusa *Orostachys japonicus*, pridobljene pri različnih časih (5–20 min) in temperaturah ekstrakcije (110–260 °C). Količina fenolov in odziv pri testu ABTS sta s časom in temperaturo ekstrakcije naraščala in dosegla maksimum v ekstraktih, pridobljenih z 20-minutno ekstrakcijo pri 200 °C. Pri testu DPPH se je kot najboljša izkazala 15-minutna ekstrakcija pri 190 °C.

Erşan in sod. (29) ter Bodoira in sod. (30) so proučevali izvlečke pistacije (*Pistacia vera*). Prvi (29) so proučevali izvlečke SWE iz semen (110–190 °C), ki so jih primerjali z ekstraktom, pridobljenim z ultrazvočno metanolno ekstrakcijo. Za vrednotenje so uporabili teste ABTS, DPPH, FRAP in FC. Vsi izvlečki SWE so imeli boljšo antioksidativno aktivnost. Bodoira in sod. (30) so proučevali izvlečke iz plodov, pri čemer so variirali temperaturo (140–220 °C) in tlak (6,5–15,5 MPa) ekstrakcije ter količino etanola kot sotpila (0–95 %). Optimalni pogoji ekstrakcije, v katerih so pridobili ekstrakt z največjo antioksidativno aktivnostjo glede na rezultate testov FC in DPPH, so bili: 220 °C, 6,5 MPa in 50-odstotni etanol kot sotpilo.

Ho in sod. (31) so primerjali različne vrste izvlečkov (preglednica 1) iz listov *Pseuderanthemum palatiferum*. Izvlečki SWE so imeli pri vseh temperaturah ekstrakcije (razen 270 °C) višjo antioksidativno aktivnost in vsebnost flavonoidov. S SWE so v ekstraktih dosegli tudi največjo vsebnost polifenolov (pri 190 °C) in flavonoidov (pri 130 °C). Cunha in sod. (32) so s testoma FC in DPPH proučevali antioksidativno aktivnost izvlečkov plute iz hrasta *Quercus suber*, ki se je višala z višanjem temperature (120–200 °C) in daljšanjem časa (do 30 min) ekstrakcije.

Zhang in sod. (33) so proučevali antioksidativno aktivnost izvlečkov SWE in HWE navadne streluške (*Sagittaria sagittifolia*). Izplen SWE se je višal s temperaturo ekstrakcije od 120 do 170 °C, nato se je začel nižati. Izplen HWE je bil dvakrat manjši, prav tako pa je bila nižja tudi antioksidativna aktivnost teh ekstraktov. Optimalni pogoji SWE so bili pri pH 7, temperaturi 170 °C, času ekstrakcije 16 min in razmerju med topilom in rastlinsko drogo 30 : 1 (mL topila/g droge).

Bodoira in sod. (34) so s testi DPPH, FC, TFC in ABTS proučevali antioksidativno aktivnost izvlečkov SWE iz ostančkov sezamovih (*Sesamum indicum*) semen po pridobivanju olja. Variirali so temperaturo (140–220 °C), tlak (8–14 MPa) in vsebnost etanola kot sotpila (0–95 %). Najvišjo antioksidativno aktivnost so ugotovili v ekstraktih, pridobljenih

pri najvišji temperaturi in srednji vsebnosti etanola. Vsebnost polifenolov v ekstraktih se je večala z naraščanjem temperature ekstrakcije, a pod pogojem, da niso hkrati večali tudi tlaka ekstrakcije. Največ flavonoidov so izmerili pri uporabi 50-odstotnega etanola. Pri vseh testih se je najbolje izkazal izvleček, pridobljen pri 220 °C, 8 MPa in 63-odstotnem etanolu.

Luo in sod. (35) so s testi FC, DPPH in ABTS proučevali izvlečke SWE in HWE iz navadnega sirka (*Sorghum bicolor*). Pri obeh ekstrakcijah so varirali čas (5–40 min) in razmerje med rastlinsko drogo in topilom (1 : 10 do 1 : 50 g/mL), pri SWE še temperaturo (110–190 °C), pri HWE pa je bila temperatura konstantna (95 °C). Optimalni pogoji ekstrakcije so bili 144,5 °C, 21 min in 35 mL/g. Ob primerjavi HW in SWE je imela SWE višje izplene polifenolov in antioksidativno aktivnost ekstraktov.

Vladić in sod. (36) so proučevali antioksidativno aktivnost izvlečkov iz korenin navadnega gabeza (*Symphytum officinale*). Pri SWE so varirali temperaturo (120–200 °C), čas ekstrakcije (10–30 min) in koncentracijo HCl kot sotopila (0–1,5 %) in ugotovili, da so optimalni pogoji 200 °C, 25,6 min in 0,0075 % HCl ob vrednotenju s testi FC, TFC in DPPH. Optimalna SWE je bila veliko bolj učinkovita kot ostale metode ekstrakcije z vidika antioksidativne aktivnosti in vsebnosti flavonoidov.

Jokić in sod. (37) so proučevali izvlečke SWE iz lupin kavovih semen (*Theobroma cacao*). Antioksidativno aktivnost so vrednotili s testoma DPPH in FC ter določili optimalne pogoje za ekstrakcijo pri 170 °C, 70 min in razmerju med topilom in drogo 20 : 1.

Dorosh in sod. (38) so primerjali antioksidativno aktivnost različnih ekstraktov SWE (50 min, 125 in 250 °C, razmerje med drogo in topilom 1 : 10) iz novih poganjkov vej (rozg) vinske trte (*Vitis vinifera*). Za vrednotenje so uporabili testa TFC in DPPH, test superoksidnega radikala aniona, test odstranjevanja vodikovega peroksida in test odstranjevanja hidroksilnih radikalov. Pri vseh antioksidativnih testih so opazili značilno razliko med ekstrakti, pridobljenimi pri temperaturah 125 °C in 250 °C, v korist višji temperaturi.

Nile in sod. (39) so proučevali ekstrakte vitanije (*Withania somnifera*). Antioksidativno aktivnost so vrednotili s testi FC, DPPH, FRAP in ABTS. SWE je pri vseh ekstrakcijskih parametrih (100–200 °C, 10–30 min) pokazala boljše izplene ekstrakcije in večjo antioksidativno aktivnost pridobljenih ekstraktov kot primerjalne metode (preglednica 1). Z metodo SWE so največji izplen ekstrakcije dosegli pri najvišji temperaturi (200 °C), antioksidativna aktivnost dobljenih ekstraktov pa je dosegla vrh pri 160 °C in nato začela padati.

6 SKLEP

Ekstrakcija s subkritično vodo je zagotovo ena izmed obetavnejših novih metod za pridobivanje rastlinskih antioksidantov. Poleg njene prednosti kot zelene tehnike k spodbujanju uporabe prispevajo tudi zanimive lastnosti vode v subkritičnem stanju, ki prispevajo k boljši ekstrakciji antioksidantov, hkrati pa višje temperature lahko povzročijo tako tvorbo novih produktov kot tudi razgradnjo že prisotnih produktov. Z vidika antioksidativne aktivnosti se moramo zavedati pomanjkljivosti antioksidativnih testov *in vitro*. Ti so sicer dobra začetna osnova za raziskovanje, ne moremo pa neposredno iz teh rezultatov sklepati na učinkovitost *in vivo*.

7 LITERATURA

1. Pečar S, Mravljak J. Šumi življenja ali radikali in druge reaktivne snovi v telesu. Slovensko farmacevtsko društvo; 2015. 176–183 p.
2. Gulcin I. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. Vol. 94, *Archives of Toxicology*. Springer; 2020. p. 651–715.
3. Murphy MP, Bayir H, Belousov V, Chang CJ, Davies KJA, Davies MJ, et al. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nat Metab*. 2022 Jun 27;4(6):651–62.
4. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press; 2015.
5. Chakraborty S, Shaik L, Gokhale JS. Subcritical Water: An Innovative Processing Technology. In: *Innovative Food Processing Technologies*. Elsevier; 2021. p. 552–66.
6. Knez Ž, Pantić M, Cör D, Novak Z, Knez Hrnčič M. Are supercritical fluids solvents for the future? Vol. 141, *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*. Elsevier B.V.; 2019. p. 107532.
7. Maroun RG, Rajha HN, El Darra N, El Kantar S, Chacar S, Debs E, et al. Emerging technologies for the extraction of polyphenols from natural sources. In: *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. Elsevier; 2018. p. 265–93.
8. Cvjetko Bubalo M, Vidović S, Radojčić Redovniković I, Jokić S. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. Vol. 109, *Food and Bioproducts Processing*. Institution of Chemical Engineers; 2018. p. 52–73.
9. Essien SO, Young B, Baroutian S. Recent advances in subcritical water and supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from plant materials. Vol. 97, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd; 2020. p. 156–69.



10. Schoss K, Kočevar Glavač N. Ekstrakcija s subkritično vodo za pridobivanje rastlinskih ekstraktov = Subcritical water extraction for the production of plant extracts. *Farm Vestn.* 2021;72(3):167–72.
11. Gilbert-López B, Plaza M, Mendiola JA, Ibáñez E, Herrero M. Subcritical Water Extraction and Neof ormation of Antioxidants. *Water Extr Bioact Compd From Plants to Drug Dev.* 2017;109–30.
12. Vlačić J, Jakovljević M, Molnar M, Vidović S, Tomić M, Drinić Z, et al. Valorization of yarrow (*Achillea millefolium* L.) by-product through application of subcritical water extraction. *Molecules.* 2020 Apr 1;25(8).
13. Benito-román Ó, Blanco B, Sanz MT, Beltrán S. Subcritical water extraction of phenolic compounds from onion skin wastes (*Allium cepa* cv. horcal): Effect of temperature and solvent properties. *Antioxidants.* 2020 Dec 1;9(12):1–20.
14. Cvetanović A, Zengin G, Zeković Z, Švarc-Gajić J, Ražić S, Damjanović A, et al. Comparative *in vitro* studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food Chem Toxicol.* 2018 Nov 1;121:458–66.
15. Švarc-Gajić J, Cerdà V, Clavijo S, Suárez R, Zengin G, Cvetanović A. Chemical and bioactivity screening of subcritical water extracts of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) stems. *J Pharm Biomed Anal.* 2019 Feb 5;164:353–9.
16. Pinto D, Vieira EF, Peixoto AF, Freire C, Freitas V, Costa P, et al. Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from chestnut shells by subcritical water extraction using response surface methodology. *Food Chem.* 2021 Jan 1;334.
17. Pangestuti R, Haq M, Rahmadi P, Chun BS. Nutritional value and biofunctionalities of two edible green seaweeds (*Ulva lactuca* and *caulerpa racemosa*) from indonesia by subcritical water hydrolysis. *Mar Drugs.* 2021 Oct 1;19(10).
18. Getachew AT, Chun BS. Molecular modification of native coffee polysaccharide using subcritical water treatment: Structural characterization, antioxidant, and DNA protecting activities. *Int J Biol Macromol.* 2017 Jun 1;99:555–62.
19. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Zeković Z, Jerković J, Zengin G, Gašić U, et al. The influence of the extraction temperature on polyphenolic profiles and bioactivity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) subcritical water extracts. *Food Chem.* 2019 Jan 15;271:328–37.
20. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Zeković Z, Gašić U, Tešić Ž, Zengin G, et al. Subcritical water extraction as a cutting edge technology for the extraction of bioactive compounds from chamomile: Influence of pressure on chemical composition and bioactivity of extracts. *Food Chem.* 2018 Nov 15;266:389–96.
21. Zakaria SM, Kamal SMM, Harun MR, Omar R, Siajam SI. Subcritical water technology for extraction of phenolic compounds from *Chlorella* sp. microalgae and assessment on its antioxidant activity. *Molecules.* 2017 Jul 1;22(7).
22. Kim DS, Lim S Bin. Semi-continuous subcritical water extraction of flavonoids from citrus unshiu peel: Their antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Antioxidants.* 2020 Apr 1;9(5).
23. Kim DS, Kim MB, Lim S Bin. Enhancement of Phenolic Production and Antioxidant Activity from Buckwheat Leaves by Subcritical Water Extraction. *Prev Nutr Food Sci.* 2017 Dec 1;22(4):345–52.
24. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Ma H. Effects of pretreatment and type of hydrolysis on the composition, antioxidant potential and HepG2 cytotoxicity of bound polyphenols from Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* L. Gaerth) hulls. *Food Res Int.* 2021 Apr 1;142.
25. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Authur DA, Ma H. Ultrasound-, subcritical water- and ultrasound assisted subcritical water-derived Tartary buckwheat polyphenols show superior antioxidant activity and cytotoxicity in human liver carcinoma cells. *Food Res Int.* 2020 Nov 1;137.
26. Mašković PZ, Veličković V, Đurović S, Zeković Z, Radojković M, Cvetanović A, et al. Biological activity and chemical profile of *Lavatera thuringiaca* L. extracts obtained by different extraction approaches. *Phytomedicine.* 2018 Jan 15;38:118–24.
27. Wang Y, Luan G, Zhou W, Meng J, Wang H, Hu N, et al. Subcritical water extraction, UPLC-Triple-TOF/MS analysis and antioxidant activity of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *Food Chem.* 2018 May 30;249:119–26.
28. Ko MJ, Nam HH, Chung MS. Subcritical water extraction of bioactive compounds from *Orostachys japonicus* A. Berger (*Crassulaceae*). *Sci Rep.* 2020 Dec 1;10(1).
29. Erşan S, Güçlü Üstündağ Ö, Carle R, Schweiggert RM. Subcritical water extraction of phenolic and antioxidant constituents from pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls. *Food Chem.* 2018 Jul 1;253:46–54.
30. Bodoira R, Velez A, Rovetto L, Ribotta P, Maestri D, Martínez M. Subcritical Fluid Extraction of Antioxidant Phenolic Compounds from Pistachio (*Pistacia vera* L.) Nuts: Experiments, Modeling, and Optimization. *J Food Sci.* 2019 May 1;84(5):963–70.
31. Ho TC, Chun BS. Extraction of Bioactive Compounds from *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. Using Subcritical Water and Conventional Solvents: A Comparison Study. *J Food Sci.* 2019 May 1;84(5):1201–7.
32. Cunha M, Lourenço A, Barreiros S, Paiva A, Simões P. Valorization of cork using subcritical water. *Molecules.* 2020 Oct 1;25(20).
33. Zhang J, Wen C, Chen M, Gu J, Zhou J, Duan Y, et al. Antioxidant activities of *Sagittaria sagittifolia* L. polysaccharides with subcritical water extraction. *Int J Biol Macromol.* 2019 Aug 1;134:172–9.
34. Bodoira R, Velez A, Andreatta AE, Martínez M, Maestri D. Extraction of bioactive compounds from sesame (*Sesamum indicum* L.) defatted seeds using water and ethanol under subcritical conditions. *Food Chem.* 2017 Dec 15;237:114–20.
35. Luo X, Cui J, Zhang H, Duan Y. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities. *Food Chem.* 2018 Oct 1;262:14–20.
36. Vlačić J, Nastic N, Stanojkovic T, Zizak Z, Cakarevic J, Popovic L, et al. Subcritical water for recovery of polyphenols from comfrey root and biological activities of extracts. *Acta Chim Slov.* 2019;66(2):473–83.
37. Jokić S, Gagić T, Knez E, Ubarić D, Kerget M. Separation of active compounds from food by-product (Cocoa Shell) using subcritical water extraction. *Molecules.* 2018;23(6).
38. Dorosh O, Moreira MM, Pinto D, Peixoto AF, Freire C, Costa P, et al. Polyphenolic Profiles of Vine-Canes (*Vitis vinifera*) Subcritical Water Extracts. *Foods.* 2020 Jul 1;9(7).
39. Nile SH, Nile A, Gansukh E, Baskar V, Kai G. Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from ashwagandha (*Withania somnifera* L.) and their biological activities. *Food Chem Toxicol.* 2019 Oct 1;132.

RESVERATROL V KOZMETIKI IN DERMATOLOGIJI

RESVERATROL IN SKINCARE AND DERMATOLOGY

AVTORICI / AUTHORS:

asist. dr. Katarina Bolko Seljak, mag. farm.
prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: mirjana.gasperlin@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Resveratrol je molekula, ki buri strokovno in laično javnost že 30 let. Leta 1992 sta raziskovalca Renaud in de Lorgeril predstavila t. i. »francoski paradoks«, tezo, ki povezuje nizko pojavnost koronarne bolezni z zmernim uživanjem rdečega vina, kljub visokemu vnosu nasičenih maščob (1). To je vodilo v identifikacijo polifenolov v vinu, med katerimi prevladuje resveratrol. Poznavanje molekule resveratrola sicer sega v leto 1940, ko so ga prvič izolirali iz vrste čmerike (*Veratrum grandiflorum*) (2).

»Francoskemu paradoksu« so sledila leta številčnih raziskav resveratrola kot prehranskega dopolnila z antioksidativnim učinkom. Žal med njimi ni bilo veliko kliničnih raziskav, ki bi potrjevale ugodne učinke resveratrola. Razlog je verjetno tudi v njegovi slabi topnosti ter obsežnem predsistemskem metabolizmu, ki imata za posledico biološko uporabnost pod

POVZETEK

V zadnjem času se uporaba resveratrola v kozmetiki in dermatologiji pomembno povečuje, pri čemer izrabljamo njegovo antioksidativno aktivnost in sposobnost prehajanja kožne bariere. Tako odkrivamo prej neznan prednosti njegove uporabe na koži, ki so posledica antioksidativnega, protivnetnega, regenerativnega, protirakavega in protimikrobnega delovanja te molekule. V prihodnosti zato pričakujemo na tržišču več kozmetike z resveratrolom, namenjene starajoči koži, nečisti koži, regeneraciji kože in koži z motnjami v pigmentaciji. Napredku navkljub pa na znanstvenem področju obstaja pomanjkanje raziskav *in vivo*, ki bi pomagale določiti optimalno koncentracijo resveratrola v dermokozmetiki in formulacijo zanj z najboljšim razmerjem med učinkovitostjo in varnostjo.

KLJUČNE BESEDE:

kozmetika, koža, resveratrol, staranje

ABSTRACT

We have been facing an increase in the use of resveratrol as an ingredient in skincare and dermatology, utilising its antioxidative activity and ability to penetrate the skin barrier. This has enabled the discovery of the previously unknown benefits of its dermal use, caused by the antioxidative, anti-inflammatory, regenerative, anti-cancer and antimicrobial activity of this molecule. In the future, more resveratrol-based skincare is thus expected on the market, intended for ageing skin, unclear skin, skin regeneration and skin with pigmentation disorders. Despite the progress, there has been a lack of *in vivo* studies in the scientific field that would help in the determination of the optimal concentration of resveratrol in dermocosmetics and its formulation with the optimal ratio between effectiveness and safety.

KEY WORDS:

ageing, resveratrol, skin, skincare

1 % (3). V zadnjih letih se je zato pozornost usmerila na uporabo resveratrola v kozmetiki in dermalnih pripravkih, pri čemer izkoriščamo njegovo sposobnost prehajanja kože. V kozmetiki resveratrol najdemo običajno v koncentraciji do 5 %, pri čemer je največkrat v obliki samostojne sestavine ali kot sestavina izvlečka vinske trte (*Vitis vinifera*) (slika 1). Z



molekulsko maso 228,25 Da in porazdelitvenim koeficientom log P (n-oktanol/voda), ki znaša 3,32, je resveratrol dober kandidat za prehajanje kožne bariere; slednjo prehaja v večji meri, če je vgrajen v vodnem mediju v primerjavi z lipofilnim medijem. V splošnem velja resveratrol za varno sestavino dermokozmetičnih izdelkov, pri čemer ga uporabljamo v koncentracijah od nekaj % (dodan kot antioksidant) do 2 % (dodan z namenom posvetlitvenega ali »anti-age« delovanja).

Žal je resveratrol, kot je značilno tudi za druge antioksidante, kemijsko nestabilna spojina. Pod vplivom UV-svetlobe namreč pride do izomerizacije *trans*-resveratrola v *cis*-resveratrol. Veliko avtorjev navaja, da je *trans*-resveratrol biološko aktivni izomer, vendar zaradi nestabilnosti in težje izolacije najdemo veliko manj raziskav o učinkih *cis*-izomera. Iz rezultatov obstoječih raziskav sklepamo na primerljivo antioksidativno delovanje *trans*-resveratrola in njegovega *cis*-izomera (4).

Da bi izboljšali stabilnost resveratrola in njegovo prehajanje kože, so raziskali tudi njegove lipofilne derivate, kot so resveratril triacetat, resveratril triglikolat, resveratril butirat, resveratril izobutirat, resveratril palmitoat, resveratril acetat in resveratril diacetat. S tehnološkega vidika pa lahko izboljšano dostavo resveratrola v oz. skozi kožo dosežemo z njegovim formuliranjem v mikroemulzije, mikrokapsule ali nanokapsule (5, 6).

2 UČINKI RESVERATROLA NA KOŽI

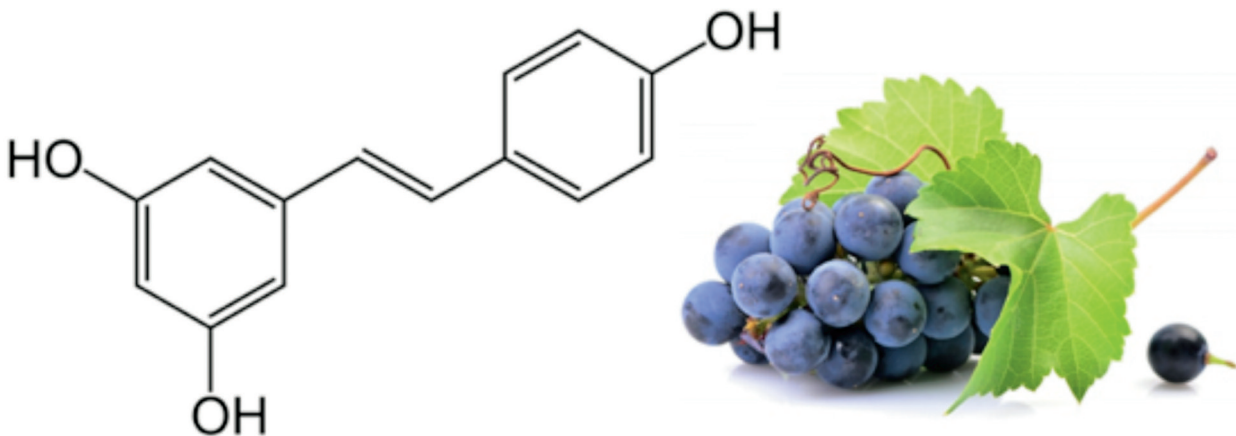
Antioksidanti, še posebej vitamina E in C, so v kozmetiki široko zastopani že vrsto let, saj zavirajo procese lipidne

(per)oksidacije, pa tudi oksidacije proteinov. Pri tem je bila antioksidativna aktivnost resveratrola (95 %) dokazano višja od antioksidativne aktivnosti vitamina E (65 %) in vitamina C (37 %). Rezultati testov antioksidativne učinkovitosti *in vitro* so tudi pokazali, da ima resveratrol 17-krat močnejšo antioksidativno aktivnost od idebenona (sinteznega analoga koencima Q₁₀). Obenem njegova sposobnost lovljenja peroksilnih radikalov presega sposobnosti vrste drugih naravnih antioksidantov, kot so katehin, epikatehin, galokatehin, galna in elagna kislina (5).

Kljub velikemu številu raziskav o učinku resveratrola na človeški organizem pa mehanizma njegovega delovanja na koži po kozmetični oz. dermatološki aplikaciji še niso podrobno opisali. V članku se bomo zato osredotočili na pregled literature o učinku resveratrola po nanosu na kožo (slika 2).

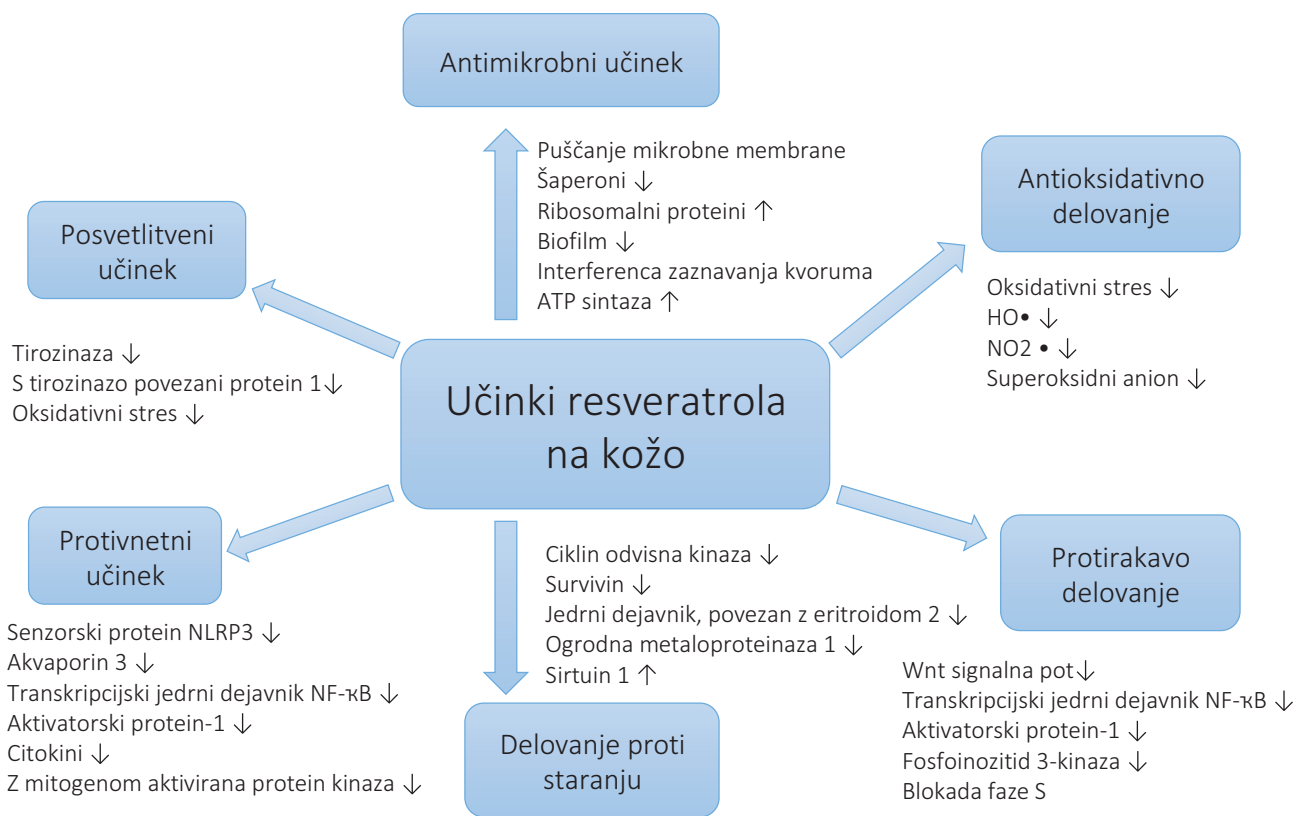
2.1 ZAVIRANJE PROCESA STARANJA KOŽE

Staranje kože je lahko posledica notranjih ali intrinzičnih (genetskih) dejavnikov ali pa izpostavljenosti zunanjim ali ekstrinzičnim (okoljskim) dejavnikom. Intrinzično oz. kronološko staranje je počasen kronološki proces, med katerim pride do nastanka gub, motenj v pigmentaciji, zmanjšane elastičnosti in izgube tonusa kože. Ekstrinzično staranje sproži izpostavljenost UV-žarkom, kajenju in onesnaženemu zraku ali pa je posledica neustrezne prehrane. Kot posledica UV-sevanja, cigaretne dima in toksinov nastajajo radikali. Antioksidanti, med katere uvrščamo tudi resveratrol, imajo sposobnost doniranja vodikovega atoma



Slika 1: Molekula *trans*-resveratrola (levo) in plod vinske trte (desno; vir slike: Freepik).

Figure 1: The molecule of *trans*-resveratrol (left) and fruit of the grape vine (right; photo: Freepik).



Slika 2: Možne poti delovanja resveratrola na koži.

Figure 2: Possible paths of resveratrol effects on the skin.

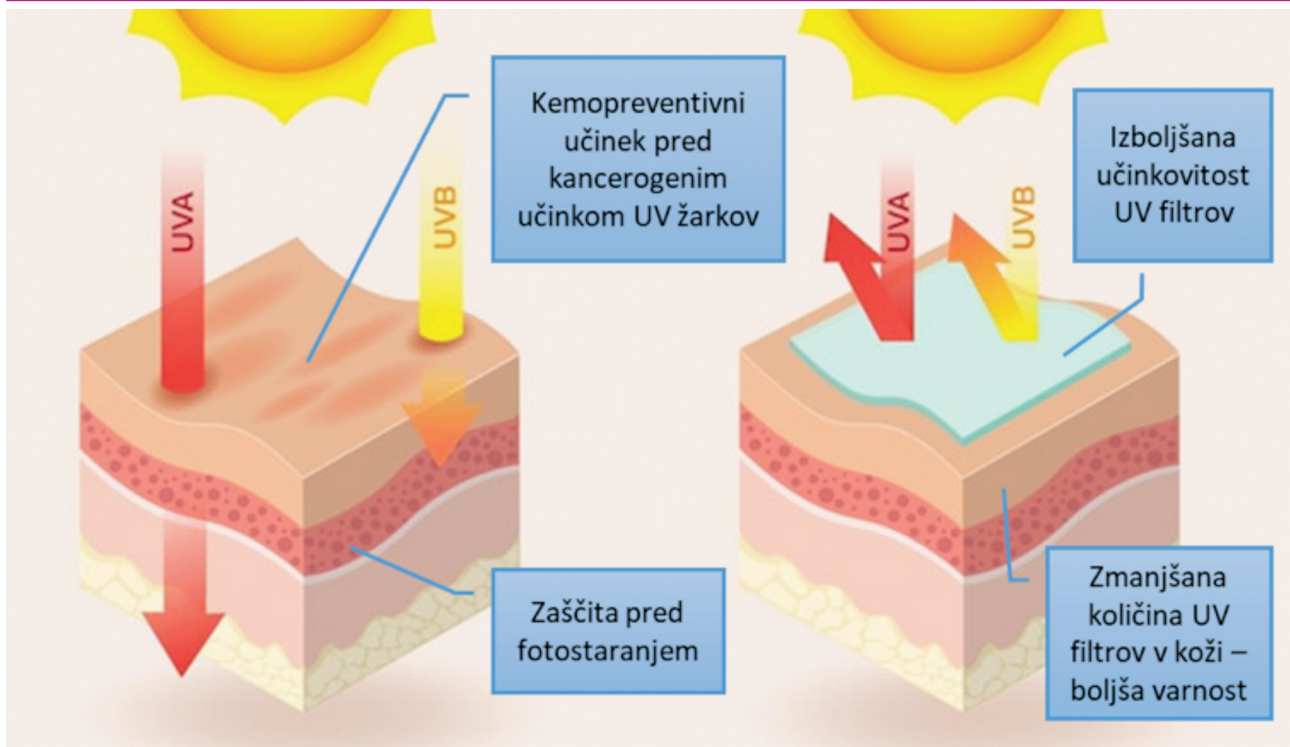
ali elektrona. Na ta način reducirajo radikale, ki nastanejo v koži zaradi izpostavljenosti oksidativnemu stresu (7).

Sirtuin je encim, ki ima pomembno vlogo pri vitalnosti, regeneraciji in odpornosti človeških celic, s starostjo pa se njegova aktivnost znižuje. Resveratrol izkazuje sposobnost aktivacije sirtuina in s tem upočasnjuje tudi proces intrinzičnega staranja (8). Med mehanizme staranja kože spada tudi proces glikacije, s katerim označujemo vezavo glukoze na makromolekule. Na ravni kože glikacija še posebej negativno vpliva na kolagenska in elastinska vlakna. Z uporabo 3D modelov kože so dokazali, da z nanosom resveratrola lahko popravimo posledice glikacije na fibroblaste v koži (9).

12-tedenska klinična raziskava na 55 osebah ženskega spola med 40. in 60. letom je pokazala, da uporaba nočne kreme z resveratrolom (1 %), baikalinom (0,5 %) in vitaminom E (1 %) lahko omeji negativne spremembe kože zaradi fotostaranja (10). Pri tem je prišlo do povečanja debeline kože za 18,9 %, kar je pozitivno vplivalo na čvrstost in elastičnost kože, glajenje drobnih gubic in zmanjšanje nee-

nakomerne obarvanosti kože. Sestavine kreme so preko zmanjšanja izražanja vaskularnega endotelijskega rastnega dejavnika A (VEGFA) pripomogle k manjši vaskularni permeabilnosti; na ta način je prišlo do zmanjšanja rdečine in vnetja kože. Poleg tega so po uporabi omenjene kreme zaznali tudi manjše rahlo povečanje biosinteze kolagena tipa III. Resveratrol zmanjša tudi izražanje transkripcijskih dejavnikov AP1 in NF-κB, kar upočasni tako razgradnjo kolagena in elastina v koži kot kožne vnetne procese. V raziskavi *in vivo* na 22 prostovoljcih so tako po nanosu emulzije z 2 % resveratrola (osem tednov, enkrat dnevno) zaznali povečanje elastičnosti in gostote kože (11).

Tudi na podganji koži po kemičnem pilingu so po 16 dneh nanosa kreme z 0,7 % trans-resveratrola zaznali povečanje sinteze kolagena, kar je ugodno vplivalo na debelino usnjice in povrhnjice (12). Ferzli in sod. pa so na 16 prostovoljcih pokazali, da formulacija z resveratrolom, polifenoli zelenega čaja in kofeinom varno zmanjša rdečino obraza po 8 do 12 tednih dnevne uporabe, a žal niso navedli deleža aktivnih sestavin v proučevani kremi (13).



Slika 3: Neposredni vpliv resveratrola na fotostaranje kože (levo) in kot sestavine v kozmetiki za zaščito pred UV-žarki (desno).
 Figure 3: Direct effect of resveratrol on photoaging skin (left) and as an ingredient in UV-protecting skincare (right).

Prav zaviralni učinek resveratrola na vnetne procese naj bi bil odgovoren za njegovo sposobnost zmanjšanja gub, nastalih kot posledica izpostavitve kože žarkom UVB (14), pri čemer so *in vitro* dokazali njegovo zaščitno delovanje na keratinocite, ki so bili izpostavljeni tako žarkom UVA (15,16) kot UVB (17).

Nanos resveratrola na kožo, izpostavljeno UV-žarkom pa ima še druge učinke (slika 3). Tako dodatek resveratrola v kombinaciji z beta-karotenom v kremo z UV-zaščito izboljša fotostabilnost UV-filtrov in zmanjša njihovo prodiranje v roženo plast in epidermis. Slednje je pomembno za varnost zaščitnih krem, še posebej v primeru uporabe UV-filtrov, ki lahko pri posameznikih povzročajo fotoalergije ali kožne dermatitise. Resveratrol spodbuja tudi nastanek avtofagocitov, ki so odgovorni za odstranitev nenormalnih celic v telesu in s tem tudi v koži (18, 19).

Resveratrol zaradi svoje podobnosti z molekulo dietilstilbestrola izkazuje tudi veliko afiniteto do α -tipa estrogenskih receptorjev. Preko vezave na te receptorje tako pozitivno vpliva na sintezo kolagena v fibroblastih, hkrati pa zavira encim kolagenazo in je tudi zato zanimiv kandidat za kozmetično aktivno sestavino v »anti-age« kozmetiki (20, 21).

2.2 PROTIRAKAVO DELOVANJE

Kožni rak je najpogostejša rakava bolezen pri ljudeh. Med pomembne dejavnike tveganja za pojav kožnega raka spada izpostavljenost UV-žarkom. Nanos resveratrola na kožo ima tako lahko protirakavo delovanje posredno zaradi njegovega zaščitnega delovanja pri izpostavitvi kože UV-sevanju (22, 23). Dodatno pa zaradi ciljanja številnih signalnih poti vpliva na procesa apoptoze in avtofagije, ki sta glavna načina smrti rakavih celic. Izkazuje tudi antiangiogeno delovanje na rakave celice ter na ta način zavira proces metastaze. Protirakavo delovanje resveratrola so dokazali *in vitro* na celicah melanoma (24), nimamo pa še raziskav *in vivo*.

2.3 POSVETLITVENO DELOVANJE

Kozmetično aktivne sestavine za posvetlitev preko različnih mehanizmov zavirajo melanogenezo – biokemični proces sinteze melanina v koži. Za resveratrol so dokazali, da vpliva na posttranskripcijsko regulacijo genov, ki sodelujejo v melanogenezi. Zavira mRNA izražanje tirozinaze, s tirozinazo povezanih proteinov 1 in 2, transkripcijskega dejavnika

mikroftalmije in DOPAkrom tautomeraze v človeških melanocitih. Vsi ti dejavniki so vključeni v procesu melanogeneze (25, 26).

V raziskavah na živalih in ljudeh je dermalni nanos 1 % resveratrola dokazano zmanjšal pigmentacijo kože zaradi izpostavljenosti UV-žarkom (27). Posvetlitveni učinek so dokazali tudi za številne analoge resveratrola, kot so resveratril triacetat, resveratril tioglikolat in oksiresveratrol (26). Pomemben pomislek pri uporabi resveratrola v posvetlitvene namene predstavlja njegova varnost. Park in sod. so tako na 3D kožnem modelu (MelanoDerm®) sicer dokazali posvetlitveni učinek resveratrola, a obenem zaznali tudi njegovo toksičnost (28). V prihodnosti bi bilo zato potrebno več raziskav, ki bi omogočile določitev optimalne koncentracije resveratrola za doseganje posvetlitvenih učinkov, tudi v kombinaciji z njegovimi derivati oz. analogi.

2.4 DELOVANJE PROTI AKNAM

Akne (*acne vulgaris*) so zelo pogosta in kronična dermatološka bolezen. Zanje je značilen pojav komedonov, papul in pustul na področjih z aktivnejšim delovanjem lojnic. Obstaja več vzrokov za nastanek aken, a običajno gre za

enega ali kombinacijo naslednjih treh: povečano izločanje sebuma, hiperkeratoza lasnih mešičkov (t. i. epidermalna proliferacija) in pa kolonizacija kože z bakterijo *Cutibacterium acnes*. Resveratrol lahko omejuje pojav aken preko različnih mehanizmov (slika 4), pri čemer med poglavitne spadata protimikrobno delovanje na *Cutibacterium acnes* in zmanjšanje izločanja sebuma (5, 29).

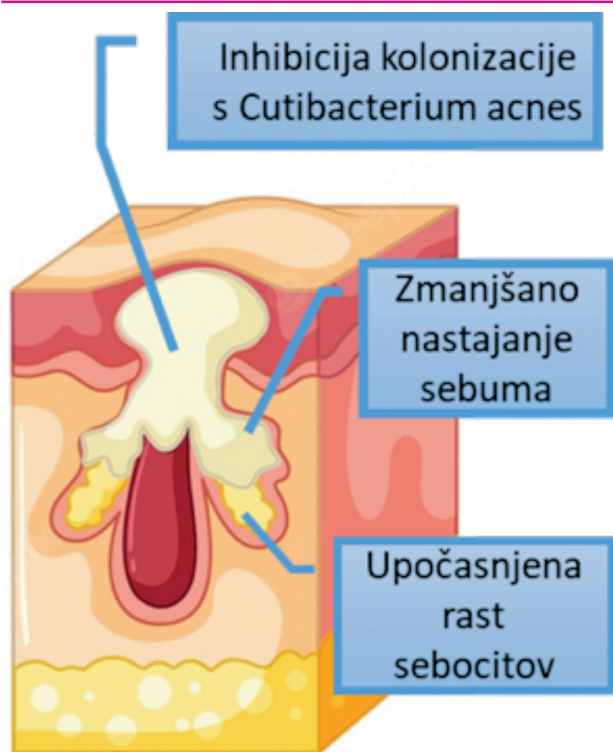
Fabbrocini in sod. so po nanosu hidrogela z resveratrolom (vsebnost slednjega ni bila navedena) na obraz 20 bolnikov z aknami 60 zaporednih dni dokazali zmanjšanje aken v povprečju za 53,75 %, velikosti mikrokomedonov pa za 66,7 % (30). Še posebej spodbudni rezultati omenjene raziskave nakazujejo na primerljivo učinkovitost resveratrola proti aknam v primerjavi z benzoilperoksidom, in sicer brez citotoksičnih učinkov, značilnih za slednjega. V drugi raziskavi na 30 ljudeh, pa so dokazali, da uporaba kreme z resveratrolom v obliki 10-odstotnega izvlečka vinske trte zmanjša videz por po 45 dneh (31).

2.5 CELJENJE RAN IN BRAZGOTIN

Celjenje kože je kompleksen proces, nujen za ohranjanje kožne bariere. Polifenoli so sposobni ta proces pospešiti preko povišanja koncentracije endotelijskih dejavnikov, kar vodi do zoženja robov ran (32). Resveratrol poveča aktivnost vaskularnega endotelijskega rastnega dejavnika (VEGF) ter pospeši procese angiogeneze, kar ugodno vpliva na hitrost celjenja ran (33, 34). Žal so večino raziskav *in vivo*, ki so dokazale regenerativni učinek resveratrola na kožo, izvedli le na živalih – podganah ali miših (35).

2.6 PROTIMIKROBNO IN PROTIVNETNO DELOVANJE

Dermalni nanos resveratrola deluje protimikrobno proti številnim sevom bakterij in gliv: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Candida albicans*. Pri tem je bila v raziskavah učinkovitost sterilne fiziološke raztopine z 1 % resveratrola celo boljša v primerjavi s komercialnimi mazili, ki so vsebovala protimikrobne (kloramfenikol) in protiglivične (klotrimazol) učinkovine (36). Na ta način se zmanjša tudi vnetni odziv kože zaradi okužbe. Ta učinek resveratrola je še posebej pomemben ob upoštevanju dejstva, da je koža več kot 90 % bolnikov z atopijskim dermatitisom kolonizirana s *Staphylococcus aureus* (37). Prav razvoj novih pristopov za nego in zdravljenje atopijskega dermatitisa pa je predmet številnih raziskav, saj dandanes uveljavljene učinkovite terapije ob dolgotrajni uporabi kortikosteroidov iz-



Slika 4: Vpliv resveratrola na akne.
Figure 4: Effect of resveratrol on acne.

kazujejo tudi neželene učinke, kot so tanjšanje kože in nastanek strij. Obenem se število bolnikov s to boleznijo iz leta v leto povečuje, še posebej med mladoletno populacijo.

3 ZAKLJUČEK

Številne raziskave nakazujejo na velik potencial resveratrola pri številnih stanjih kože, kot so staranje, poškodbe, brazgotine, hiperpigmentacija in akne. Žal pa je kliničnih raziskav, ki bi neizpodbitno dokazovale učinke resveratrola na koži, zelo malo. V prihodnosti si zato želimo objave rezultatov več raziskav, predvsem kliničnih na ljudeh, ki bi podale jasne smernice o primernih koncentracijah in formulacijah resveratrola v kozmetiki za njegovo učinkovito in varno uporabo na koži in bi nenazadnje omogočale prenos resveratrola kot učinkovine tudi v klinično rabo v dermatologiji.

4 LITERATURA

1. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. 1992 Jun 20;339(8808):1523-6.
2. Takaoka MJ. Of the Phenolic Substances of White Hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loe. fil.). *J Faculty Sci Hokkaido Imperial University*. 1940;3:1-16.
3. Walle T. Bioavailability of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*. 2011 Jan;1215:9-15.
4. Leischner C, Burkard M, Michel A, Berchtold S, Niessner H, Marongiu L, et al. Comparative Analysis of the Antitumor Activity of Cis- and Trans-Resveratrol in Human Cancer Cells with Different p53 Status. *Molecules*. 2021;26(18):5586.
5. Ratz-Lyko A, Arct J. Resveratrol as an active ingredient for cosmetic and dermatological applications: a review. *J Cosmet Laser Ther*. 2019;21(2):84-90.
6. Seljak KB, Berginc K, Trontelj J, Zvonar A, Kristl A, Gašperlin M. A self-microemulsifying drug delivery system to overcome intestinal resveratrol toxicity and presystemic metabolism. *J Pharm Sci*. 2014 Nov;103(11):3491-500.
7. Davinelli S, Bertoglio JC, Polimeni A, Scapagnini G. Cytoprotective Polyphenols Against Chronological Skin Aging and Cutaneous Photodamage. *Curr Pharm Des*. 2018;24(2):99-105.
8. Truong VL, Jun M, Jeong WS. Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress. *Biofactors*. 2018 Jan;44(1):36-49.
9. Markiewicz E, Jerome J, Mammone T, Idowu OC. Anti-Glycation and Anti-Aging Properties of Resveratrol Derivatives in the in-vitro 3D Models of Human Skin. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2022 May 19;15:911-927.
10. Farris P, Yatskayer M, Chen N, Krol Y, Oresajo C. Evaluation of efficacy and tolerance of a nighttime topical antioxidant containing resveratrol, baicalin, and vitamin e for treatment of mild to moderately photodamaged skin. *J Drugs Dermatol*. 2014 Dec;13(12):1467-72.
11. Brinke A, Janssens-Böcker C, Kerscher M. Skin Anti-Aging Benefits of a 2% Resveratrol Emulsion. *J Cosmet Dermatol Sci Appl*. 2021;11:155-68.
12. Gonçalves G, Barros P, da Silva G, dos Santos E, Minutti A. Formulations Containing Curcumin or Trans-Resveratrol Increase Dermal Thickness in Rats Submitted to Chemical Peeling. *J Cosmet Dermatol Sci Appl*. 2017;7:14-26.
13. Ferzli G, Patel M, Phrsai N, Brody N. Reduction of facial redness with resveratrol added to topical product containing green tea polyphenols and caffeine. *J Drugs Dermatol*. 2013 Jul 1;12(7):770-4.
14. Subedi L, Lee TH, Wahedi HM, Baek SH, Kim SY. Resveratrol-Enriched Rice Attenuates UVB-ROS-Induced Skin Aging via Downregulation of Inflammatory Cascades. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:8379539.
15. Liu Y, Chan F, Sun H, Yan J, Fan D, Zhao D, An J, Zhou D. Resveratrol protects human keratinocytes HaCaT cells from UVA-induced oxidative stress damage by downregulating Keap1 expression. *Eur J Pharmacol*. 2011 Jan 10;650(1):130-7.
16. Chen ML, Li J, Xiao WR, Sun L, Tang H, Wang L, Wu LY, Chen X, Xie HF. Protective effect of resveratrol against oxidative damage of UVA irradiated HaCaT cells. *Jhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Ban*. 2006;31:635-9.
17. Zhou F, Huang X, Pan Y, Cao D, Liu C, Liu Y, Chen A. Resveratrol protects HaCaT cells from ultraviolet B-induced photoaging via upregulation of HSP27 and modulation of mitochondrial caspase-dependent apoptotic pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 May 15;499(3):662-8.
18. Freitas JV, Lopes NP, Gaspar LR. Photostability evaluation of five UV-filters, trans-resveratrol and beta-carotene in sunscreens. *Eur J Pharm Sci*. 2015 Oct 12;78:79-89.
19. Freitas JV, Praça FS, Bentley MV, Gaspar LR. Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. *Int J Pharm*. 2015 Apr 30;484(1-2):131-7.
20. Farris P, Krutmann J, Li YH, McDaniel D, Krol Y. Resveratrol: a unique antioxidant offering a multi-mechanistic approach for treating aging skin. *J Drugs Dermatol*. 2013 Dec;12(12):1389-94.
21. Giardina S, Michelotti A, Zavattini G, Finzi S, Ghisalberti C, Marzatico F. Efficacy study in vitro: assessment of the properties of resveratrol and resveratrol + N-acetyl-cysteine on proliferation and inhibition of collagen activity. *Minerva Ginecol*. 2010;62(3):195-201.
22. Aziz SW, Aziz MH. Protective molecular mechanisms of resveratrol in UVR-induced Skin carcinogenesis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2018 Jan;34(1):35-41.
23. Ravikumar P, Katariya M, Patil S, Tatke P, Pillai R. Skin delivery of resveratrol encapsulated lipidic formulation for melanoma chemoprevention. *J Microencapsul*. 2019 Sep;36(6):535-51.
24. Heo JR, Kim SM, Hwang KA, Kang JH, Choi KC. Resveratrol induced reactive oxygen species and endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis, and cell cycle arrest in the A375SM malignant melanoma cell line. *Int J Mol Med*. 2018 Sep;42(3):1427-35.
25. Sheweita SA, El-Masry YM, Zaghoul TI, Mostafa SK, Elgindy NA. Preclinical studies on melanogenesis proteins using a

- resveratrol-nanoformula as a skin whitener. *Int J Biol Macromol*. 2022 Dec 31;223(Pt A):870-81.
26. Boo YC. Human Skin Lightening Efficacy of Resveratrol and Its Analogs: From in Vitro Studies to Cosmetic Applications. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Aug 22;8(9):332.
 27. Lin MH, Hung CF, Sung HC, Yang SC, Yu HP, Fang JY. The bioactivities of resveratrol and its naturally occurring derivatives on skin. *J Food Drug Anal*. 2021 Mar 15;29(1):15-38.
 28. Park J, Park JH, Suh HJ, Lee IC, Koh J, Boo YC. Effects of resveratrol, oxyresveratrol, and their acetylated derivatives on cellular melanogenesis. *Arch Dermatol Res*. 2014 Jul;306(5):475-87.
 29. Szulc-Musioł B, Sarecka-Hujar B. The Use of Micro- and Nanocarriers for Resveratrol Delivery into and across the Skin in Different Skin Diseases-A Literature Review. *Pharmaceutics*. 2021 Mar 26;13(4):451.
 30. Fabbrocini G, Staibano S, De Rosa G, Battimiello V, Fardella N, Iardi G, La Rotonda MI, Longobardi A, Mazzella M, Siano M, Pastore F, De Vita V, Vecchione ML, Ayala F. Resveratrol-containing gel for the treatment of acne vulgaris: a single-blind, vehicle-controlled, pilot study. *Am J Clin Dermatol*. 2011 Apr 1;12(2):133-41.
 31. Bonato Alves Oliveira L, Oliveira RPD, Oliveira C, Raposo NRB, Brandão MAF, Ferreira ADO, Polonini H. Cosmetic Potential of a Liotropic Liquid Crystal Emulsion Containing Resveratrol. *Cosmetics*. 2017; 4(4):54.
 32. Soleymani S, Iranpanah A, Najafi F, Belwal T, Ramola S, Abbasabadi Z, Momtaz S, Farzaei MH. Implications of grape extract and its nanoformulated bioactive agent resveratrol against skin disorders. *Arch Dermatol Res*. 2019 Oct;311(8):577-88.
 33. Liu Y, Xiong W, Wang CW, Shi JP, Shi ZQ, Zhou JD. Resveratrol promotes skin wound healing by regulating the miR-212/CASP8 axis. *Lab Invest*. 2021 Oct;101(10):1363-70.
 34. Hecker A, Schellnegger M, Hofmann E, Luze H, Nischwitz SP, Kamolz LP, Kotzbeck P. The impact of resveratrol on skin wound healing, scarring, and aging. *Int Wound J*. 2022 Jan;19(1):9-28.
 35. Leis K, Pisanko K, Jundziłł A, Mazur E, Męcińska-Jundziłł K, Witmanowski H. Resveratrol as a factor preventing skin aging and affecting its regeneration. *Postepy Dermatol Alergol*. 2022 Jun;39(3):439-45.
 36. Shevelev AB, La Porta N, Isakova EP, Martens S, Biryukova YK, Belous AS, Sivokhin DA, Trubnikova EV, Zylkova MV, Belyakova AV, Smirnova MS, Deryabina YI. In Vivo Antimicrobial and Wound-Healing Activity of Resveratrol, Dihydroquercetin, and Dihydromyricetin against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. *Pathogens*. 2020 Apr 17;9(4):296.
 37. Ong Peck Y. Recurrent MRSA Skin Infections in Atopic Dermatitis-. *Allergy Clin Immunol Pract*. 2014;2(4):396-9.



KOZMETIČNI IZDELKI ZA ZAŠČITO KOŽE PRED OKOLJSKIMI ONESNAŽEVALI

ANTI-POLLUTION COSMETIC PRODUCTS

AVTORICI / AUTHORS:

izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk, mag. farm.
doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: mirjam.gosenca.matjaz@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Vse večja industrializiranost in naraščanje deleža prebivalcev, ki živijo v urbanih okoljih, se vse bolj odraža tudi v večji izpostavljenosti kože in celotnega organizma onesnaževalom iz okolja. Glede na poročilo Svetovne zdravstvene organizacije (*World Health Organisation* – WHO) je leta 2016 v okoljih, ki ne izpolnjujejo njihovih smernic za

POVZETEK

V zadnjih letih postajajo vse bolj aktualni (kozmetični) izdelki za zaščito kože pred onesnaženim okoljem, predvsem zaradi vse večje onesnaženosti zraka v urbaniziranem okolju. Kontinuirana izpostavljenost onesnaženemu zraku vodi v oksidativni stres in vnetje v koži. To med drugim pospešuje proces staranja kože, negativno pa vpliva tudi na kožna vnetna obolenja, kot so akne, atopijski dermatitis in luskavica. V prispevku so predstavljene različne strategije, s katerimi se lahko zoperstavimo vplivom onesnaženja s pomočjo zaščitnih (kozmetičnih) izdelkov – od mehanske zaščite kože pred odlaganjem onesnaževal na njeno površino in krepitev barierne funkcije kože do nevtraliziranja posledic oksidativnega stresa in preprečevanja vnetja ter tudi vrednotenje učinkovitosti izdelkov *in vivo/in vitro*.

KLJUČNE BESEDE:

kožna bariera, mehanizmi delovanja, okoljska onesnaževala, vrednotenje *in vivo/in vitro*, zaščitni izdelki

ABSTRACT

Lately, anti-pollution cosmetic products are experiencing significant growth and many cosmetic products on the market claim anti-pollution effects due to increasing levels of pollutants in many metropolitan areas around the world. Constant exposure to air pollution is associated with detrimental effects on the skin by causing oxidative stress and inflammation, leading to premature ageing and aggravation of inflammatory skin diseases such as acne, atopic dermatitis and psoriasis among others. This review presents various strategies of anti-pollution (cosmetic) products – from preventing pollutants deposition on the skin and strengthening skin barrier function to decreasing oxidative stress and reducing inflammation, as well as *in vivo/in vitro* efficacy testing for anti-pollution claims.

KEY WORDS:

air pollution, anti-pollution products, *in vivo/in vitro* testing, mechanism of action, skin barrier

kakovost zraka, živelo 90 % ljudi, leta 2022 pa že skoraj celotno svetovno prebivalstvo (99 %). V skladu s tem globalno narašča število otrok z atopijskim dermatitisom, katerega pogostost v razvijajočih se državah jugovzhode

Azije, Afrike in Latinske Amerike dosega tudi do 25 %. A škodljivi vplivi onesnaženega zraka se ne ustavijo pri naši koži – po podatkih WHO iz leta 2018 zaradi onesnaženosti okolja tako letno umre več kot štiri milijone ljudi (1–5).

Kontinuirana izpostavljenost onesnaženemu zraku poveča tveganje za razvoj srčno-žilnih in dihalnih obolenj, vodi pa tudi v oksidativni stres in vnetje v koži. Slednja je naš največji organ in predstavlja bariero med notranjostjo in zunanostjo organizma, zato je škodljivim učinkom onesnaževal iz okolja še toliko bolj izpostavljena. V tem prispevku se bomo osredotočili na pomen zaščite kože z uporabo (kozmetičnih) izdelkov, ki nudijo zaščito pred okoljskimi onesnaževali in jih v angleško govorečih področjih poznajo pod imenom *antipollution products*.

2 OKOLJSKA/INDUSTRIJSKA ONESNAŽEVALA IN MEHANIZMI POŠKODBE KOŽE

Preko onesnaženega zraka prihajamo v stik z različnimi skupinami onesnaževal, ki jih razvrstimo v plinasta onesnaževala, obstojna organska onesnaževala, trdne delce in težke kovine. Preko izpušnih plinov in cigaretne dima smo izpostavljeni tudi policikličnim aromatskim ogljikovodikom, ki so prav tako zdravju škodljivi (1, 4, 5).

2.1 PLINASTA ONESNAŽEVALA

Značilna plinasta onesnaževala so ogljikov monoksid (CO), žveplov dioksid (SO₂), dušikovi oksidi, ozon in hlapne organske spojine. Večinoma nastajajo pri zgorevanju fosilnih goriv, v ozračje pa prihajajo tudi preko drugih industrijskih in naravnih procesov, kot so npr. delna oksidacija ogljikovih spojin (predvsem vir CO), predelava materialov, ki vsebujejo žveplo, in z izbruhi vulkanov (viri SO₂) ter kot produkt fotokemičnih reakcij izpušnih plinov vozil in industrije v spodnjih plasteh atmosfere (viri ozona). Hlapne organske spojine so lahko hlapne ogljikove spojine, kot so benzen, toluen, ksilen in formaldehid. Vir nekaterih je promet, druge pa so značilna onesnaževala zraka v zaprtih bivalnih prostorih. Sproščajo se namreč iz novih zidnih in talnih oblog, pohištva in plastike, pa tudi iz različnih pripomočkov za čiščenje. V raziskavi, v kateri so proučevali povezavo med prenavljanjem stanovanj in zdravjem kože šoloobveznih otrok v Južni Koreji, so ugotovili, da je bivanje otrok v prenovljenem stanovanju za trikrat povečalo tveganje za pojav atopijskega dermatitisa v primerjavi z otroki iz stanovanj, ki v zadnjem letu niso bila pre-

novljena (6). Slednje je v skladu z nemško raziskavo, v kateri so potrdili hlapenje formaldehida in drugih hlapnih organskih spojin iz zidnih oblog na osnovi umetnih mas, medtem ko so novejša obloge na osnovi sestavin rastlinskega izvora sproščale hlapne fitoncide, ki so na stanje kožne bariere izkazovali celo ugoden učinek (7). Bolj znani kot vplivi na kožo so sicer negativni učinki plinastih onesnaževal na dihala, na katere se v tem prispevku ne bomo osredotočali.

2.2 OBSTOJNE ORGANSKE SPOJINE

Kot nakazuje poimenovanje, so obstojna organska onesnaževala, ki jih zaradi velike škodljivosti za okolje in živa bitja regulirajo zakonodaja EU in posebni mednarodni sporazumi in programi (8, 9), zelo obstojne organske spojine, kot so pesticidi, dioksini, dioksinom podobni poliklorirani difenili in furani, ki se zelo počasi razgrajujejo. Sčasoma se zato bioakumulirajo v rastlinah in živih organizmih (v maščobnem tkivu). V okolju se nalagajo predvsem v zemlji, zasledimo pa jih tudi v vodi in zraku, s katerim se lahko širijo tudi daleč od vira onesnaženja. Najvišje koncentracije teh snovi sicer zasledimo blizu prometnih ali industrijskih središč, izjemno problematičen pa je njihov vstop v prehransko verigo (10).

2.3 ATMOSFERSKI DELCI

Izraza »atmosferski delci« ali »trdni delci« (*particulate matter* – PM) uporabljamo za zmes trdnih delcev in kapljic majhnih velikosti, ki so dispergirani v zraku. Glede na velikost jih delimo na delce PM₁₀ (premer 2,5–10 μm), delce PM_{2,5} (premer < 2,5 μm) in delce PM_{0,1} (premer < 0,1 μm). Predvsem v mestih in ob prometnih cestah velik vir onesnaževanja z najmanjšimi delci predstavlja promet. Pomemben antropogeni vir atmosferskih delcev so tudi kurišča, termoelektrarne in industrija, lahko pa so tudi naravnega izvora – gozdni požari, vulkanski pepel in cvetni prah. Zaradi majhne velikosti se v atmosferi zadržujejo dolgo časa in so nevarni za zdravje, njihovi škodljivi učinki na naše telo pa so predmet intenzivnih raziskav. Na manjše delce, ki imajo veliko specifično površino, v zraku pa se zadržujejo dlje časa, se lahko vežejo tudi cvetni prah ter onesnaževala, kot so težke kovine, policiklični aromatski ogljikovodiki in ozon, zaradi česar predstavljajo še večje tveganje za zdravje (11).

Znano je, da povečajo umrljivost za boleznimi dihal, srca in ožilja, škodljive učinke pa izkazujejo tudi na koži. Izsledki raziskave na 21 južnokorejskih otrocih so potrdili škodljive učinke višjih koncentracij trdnih delcev na potek atopijskega dermatitisa pri otrocih, ki so živeli v urbanem okolju z bolj



onesnaženim zrakom. Izkazalo se je, da na poškodbo kožne bariere pomembno vpliva tudi velikost trdnih delcev. Bolj škodljivi so manjši delci (2,5–5 µm), ki lahko penetrirajo globlje v kožo in se posledično v njej zadržijo dlje časa (12). V raziskavi *in vivo* na prašičih so potrdili poškodbe strukturnih proteinov rožene plasti (vključno s filagrinom, citokeratinom in E-kadherinom) zaradi izpostavljenosti kože suspenziji trdnih delcev težkih kovin in policikličnih aromatskih ogljikovodikov (3, 13). Na celični kulturi keratinocitov pa je prisotnost trdnih delcev stimulirala tvorbo tkivnih metaloproteaz in vnetnih citokinov (14). Letna mejna koncentracija PM₁₀ za varovanje zdravja ljudi je 20 µg/m³, za PM_{2,5} pa 10 µg/m³ (5, 15).

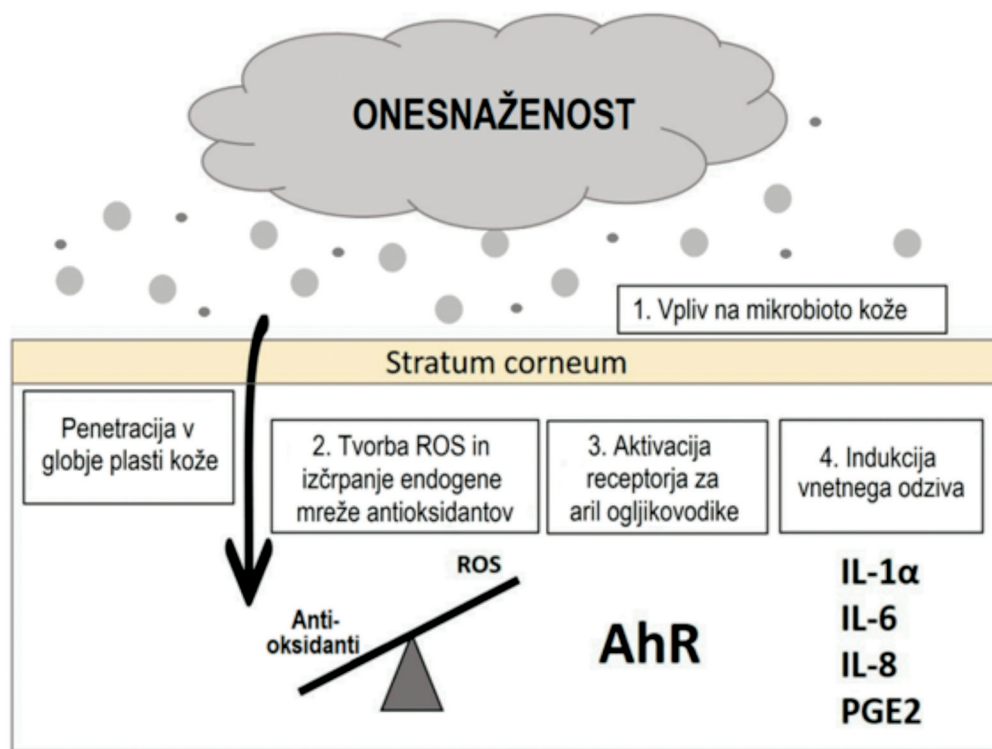
2.4 TEŽKE KOVINE

Najpogostejša onesnaževala med težkimi kovinami iz talnih vzorcev predstavljajo kadmij, cink, svinec, krom, nikelj, živo srebro in baker. So obstojni in trajno onesnažujejo okolje, kar ima bistven vpliv tudi na bioakumulacijo v prehranski verigi in posledično vnos težkih kovin v človeški organizem. K onesnaženosti atmosfere s težkimi kovinami prispevajo

tako naravni dejavniki (vir kadmija in svineca so vulkanski izbruhi, glavni vir živega srebra pa hlapi morske vode) kot tudi antropogeni viri (rudarjenje in taljenje rude, promet, kmetijska uporaba fitofarmaceutskih sredstev in mineralnih gnojil, metalurgija, tekstilna industrija in industrija plastike idr.) (16).

2.5 TOBAČNI DIM

V tobačnem dimu lahko zasledimo preko 7.000 različnih kemičnih spojin, številne od njih so zdravju škodljive, okoli 70 pa jih uvrščamo med karcinogene. Skupaj z izpušnimi plini je pomemben vir policikličnih aromatskih ogljikovodikov, ki se v našem organizmu presnavljajo v spojine, ki so lahko rakotvorne (1, 4, 5, 17). Tobačni dim izkazuje škodljive učinke tudi na kožo. Vrednosti transepidermalne izgube vode, ki je merilo za barierno funkcijo kože, so pri aktivnih in pasivnih kadilcih višje kot pri osebah, ki niso v stiku s tobačnim dimom. Raziskave tudi kažejo na kar dvakrat večje tveganje za razvoj atopijskega dermatitisa pri otrocih, ki so bili v prenatalnem obdobju ali v prvih dveh letih življenja izpostavljeni tobačnemu dimu (3).



Slika 1: Glavni mehanizmi delovanja onesnaževal na kožo; prirejeno po (18).

Figure 1: The main mechanisms of pollutants' influence on the skin; adapted from (18).

2.6 UČINKI ONESNAŽEVAL NA KOŽO

Koža je naš največji organ, ki opravlja številne funkcije, med drugim tudi zaščitno. Preprečuje prehajanje mikroorganizmov, ksenobiotikov in drugih spojin v notranjost telesa ter prekomerno izgubo vode skozi telesno površino. Nudi nam tudi določeno zaščito pred mehanskimi dejavniki in UV-sevanjem, tako v kožni povrhnjici kot usnjici pa najdemo tudi celice imunskega sistema. Ker je v neposrednem stiku z onesnaževali, je njihov negativen učinek na kožo pričakovano, védenje o podrobnejših mehanizmihi, ki vodijo v poškodbe kože, pa zaenkrat še omejeno. Vemo, da je izpostavljenost kože onesnaženemu zraku povezana s pre zgodnjim staranjem kože in pojavom hiperpigmentacije. Trdni delci lahko prodrejo v kožo skozi dlačne mešičke in oslabijo barierno funkcijo kože ter skupaj z drugimi onesnaževali povečajo tveganje za pojav vnetnih kožnih bolezni oz. za njihovo poslabšanje. V aktualnih raziskavah so opisani različni mehanizmi, ki vodijo v poškodbo kože zaradi onesnaženosti zraka (slika 1) (4, 7, 18).

2.6.1 Vpliv na kožno mikrobioto

Površino kože (in njene globlje plasti) naseljujejo raznoliki mikroorganizmi, ki so v medsebojnem ravnovesju in skupaj tvorijo kožno mikrobioto. Slednjo delimo na stalno in prehodno. Prva je v določenem obdobju življenja praviloma vedno prisotna na značilnih predelih telesa, podpira razvoj kožne bariere in nas ščiti pred kolonizacijo in prekomernim razrastom patogenov, medtem ko predstavniki prehodne mikrobiote naseljujejo našo kožo in sluznice le začasno. V okviru raziskav na temo atopijskega dermatitisa so ugotovili, da onesnažen zrak negativno vpliva na kožno mikrobioto, saj lahko zmanjša zastopanost stalne mikrobiote, kar olajša kolonizacijo kože s patogenimi sevi *Streptococcus* sp. in *Staphylococcus* sp. (zlasti *S. aureus*). Značilno se zmanjša tudi raznolikost mikrobiote (18, 19, 20).

2.6.2 Tvorba reaktivnih kisikovih spojin

Reaktivne kisikove zvrsti (*reactive oxygen species* – ROS) se v majhnih količinah tvorijo kot stranski produkt fiziološke presnove celic, v večjem obsegu pa tekoma oksidativnega stresa kot dela obrambe imunskega sistema. Do močno povečane tvorbe ROS lahko pride pod vplivom vseh vrst onesnaževal in drugih zunanjih stresnih dejavnikov. Neposreden učinek na tvorbo radikalov, ki lahko vodijo v stanje oksidativnega stresa, izkazujejo npr. ionizirajoče in UV-sevanje ter ozon, medtem ko je učinek npr. aromatskih polikličnih ogljikovodikov posreden – preko stimulacije citokroma P₄₅₀. Povečana tvorba ROS lahko vodi v oksidativni

stres, posledice pa se odražajo kot škodljivi učinki na celice in tkiva, vključno s kožo, in vodijo v številne sodobne bolezni ter tudi pospešeno staranje. V koži je slednje povezano s poškodbami DNA (mutacije), proteinov (npr. zaradi večje aktivnosti metaloproteaz) in lipidov (zaradi lipidne peroksidacije) (21–24).

2.6.3 Aktivacija receptorja za aril ogljikovodike

Receptor za aril ogljikovodike (AhR) je jedrni receptor, ki spada med citosolne z ligandi aktivirajoče transkripcijske dejavnike. Uravnava indukcijo v metabolizmu ksenobiotikov vključenih encimov, vpleten pa je tudi v delovanje imunskega sistema, celični cikel ter proliferacijo in diferenciacijo keratinocitov. Aktivirajo ga ligandi s pretežno planarno aromatsko strukturo, ki so lahko endogenega ali eksogenega izvora. Med slednje uvrščamo nekatera onesnaževala (poliklični aromatski ogljikovodiki in dioksini) pa tudi spojine naravnega izvora (npr. glukozinolati in flavonoidi). Aktivacija AhR vodi v različne odzive, ki so zelo odvisni od liganda, pa tudi od vrste celice. Znano je, da je vključen tudi v s kemikalijami inducirano karcinogenezo. Medtem ko je konstitutivna aktivacija AhR pod vplivom endogenih ligandov nujno potrebna za pravilno delovanje celic, velja njegova eksogena aktivacija za škodljivo (25). Novejše raziskave potrjujejo, da je signaliziranje AhR udeleženo tudi v patogenezi nekaterih kožnih bolezni, zato raziskovalci proučujejo možnost preprečevanja/zdravljenja kožnega raka z zaviranjem aktivnosti AhR (18, 26, 27, 28).

Kim in sod. so potrdili povečano ekspresijo AhR pri osebah z atopijskim dermatitisom in luskavico, aktivacija AhR pri zdravih prostovoljcih pa je vodila v povečano ekspresijo vnetnih citokinov v keratinocitih (27). Morita in sod. so poročali, da aktivacija AhR pod vplivom tobačnega dima vodi v povečano ekspresijo metaloproteaz v osnovni substanci usnjice, ki so odgovorne za razgradnjo kolagena in s tem povezanim staranjem kože in nastankom gub (29).

2.6.4 Vnetni odziv kože

Onesnažen zrak inducira vnetni odziv kožnega tkiva. Interlevkine (IL) uvrščamo med citokine, tj. topne proteinske signalne molekule, ki posredujejo komunikacijo med celicami. Sodelujejo tudi pri sprožitvi vnetne kaskade, značilne za različne vnetne bolezni kože pa tudi za staranje kože in kožnega raka. Sproščanje vnetnih citokinov zaradi izpostavljenosti tkiv onesnaženemu zraku so proučevali v več raziskavah. Potrdili so, da večji trdni delci pomembno povečajo vrednosti IL-6 in IL-8 ter granulocitno-makrofagnih kolonij stimulirajočega faktorja (GM-CSF), najmanjši delci PM_{2,5} vrednosti dejavnika tumorske nekroze alfa (TNF- α)

ter IL-1 in IL-8, izpostavljenost ozonu pa IL-1 α in prostaglandina E₂. V raziskavah, ki so proučevale mehanizme razvoja atopijskega dermatitisa, so prav tako potrdili, da izražanje vnetnih citokinov preko AhR in jedrnega dejavnika kappa B vpliva na povečanje srbenja, vnetja in poslabšanje simptomov te bolezni (4, 18, 30–33).

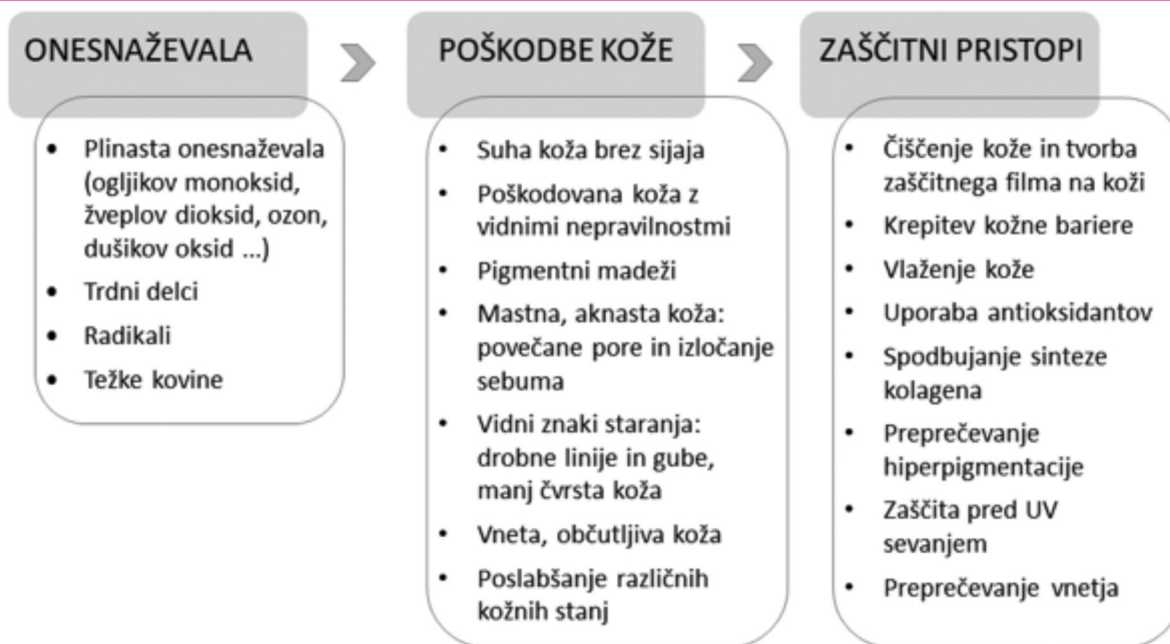
3 KOZMETIČNI IZDELKI ZA ZAŠČITO KOŽE PRED OKOLJSKIMI ONESNAŽEVALI

Zaradi vse večje ozaveščenosti o škodljivih vplivih onesnaženega zraka sta razvoj in povpraševanje po zaščitnih kozmetičnih izdelkih, ki bi omilili negativne vplive onesnaževal na kožo, v izrazitem porastu. Vrednost trga kozmetičnih izdelkov za zaščito pred onesnaževali je v letu 2021 znašala že blizu 7 milijard USD z zabeleženo 5,3-odstotno rastjo v obdobju od 2016 do 2022, medtem ko je predvidena letna rast za obdobje 2021–2031 kar 7,3-odstotna (34). Delež potrošnikov, ki se zaveda oz. je zaskrbljen zaradi vpliva onesnaženosti na stanje kože, je značilno visok med azijskimi potrošniki, kar korelira z visoko in naraščajočo

stopnjo poseljenosti ter na industriji slonečim gospodarstvom in s tem povezano onesnaženostjo okolja. Dodatno velja izpostaviti kozmetični trg Južne Koreje, ki je zaradi visokih zahtev glede zunanega videza, tudi do te mere, da vpliva na zaposljivost, eden najbolj razvitih in naprednih, če ne prvi v svetovnem merilu. Tako je trg vzhodne Azije eden izmed najbolj atraktivnih v segmentu zaščitnih izdelkov pred onesnaževali, kjer prednjačita Kitajska in Južna Koreja z ocenjenima tržnima deležema 63 % in 12,6 % za leto 2021, medtem ko na trgu Južne Azije prednjači Indija s 24,5-odstotnim deležem. Očiten trend naraščanja pomena in potenciala ter povpraševanja po takšnih izdelkih je vsekako opazen tudi na področju Evrope in Amerike, obseg proizvodnje in lansiranja pa največji v Združenih državah Amerike, Južni Koreji, na Kitajskem in Japonskem (34).

3.1 KOZMETIČNO AKTIVNE SESTAVINE V KOZMETIČNIH IZDELKIH ZA ZAŠČITO KOŽE PRED ONESNAŽENOSTJO OKOLJA

Raznolikost okoljskih onesnaževal, ki povzročajo poškodbe kože, se odraža v širokem naboru (aktivnih) sestavin koz-



Slika 2: Škodljivi učinki onesnaževal na kožo ter ciljni učinki zaščitnih (kozmetičnih) izdelkov kot vodilo za njihovo formuliranje; prirejeno po (35).

Figure 2: Impact of environment pollutants on skin damage and anticipated effects as guiding principles for anti-pollution (cosmetic) product design; adapted from (35).

metičnih izdelkov, s katerimi želimo na različne načine zmanjšati stik onesnaževal s kožo ali nevtralizirati oz. popraviti njihove škodljive učinke na kožo, kot je predstavljeno na sliki 2. Pogosto posamezna (aktivna) sestavina deluje oz. ščiti kožo po več mehanizmih hkrati. Pri formuliranju izdelkov velja splošna usmeritev k uporabi zmesi aktivnih sestavin, ki delujejo po različnih mehanizmih in tako pripomorejo k bolj celostni in učinkoviti zaščiti (35). V tem okviru velja izpostaviti sestavine rastlinskega izvora (izvlečkov alg in rastlinskih izvlečkov) zaradi vsebnosti bioaktivnih sestavin z antioksidativnim, kelirajočim in protivnetnim učinkom, vplivom na izražanje genov za ključne proteine kože, sposobnostjo tvorbe filma ter vlažilnega delovanja (36). Tržni delež aktivnih sestavin za zaščito pred onesnaževali na svetovni ravni ocenjujejo na 870,4 milijonov USD s predvideno letno rastjo 5,4 % do 1,4 milijarde USD do konca leta 2031. Proizvodnja in prodaja sestavin za zaščito pred onesnaženostjo obsega 5 % celokupnega svetovnega trga kozmetičnih sestavin. V tem okviru predstavljajo največji delež polimeri (36 %), sledijo sestavine rastlinskega izvora, antioksidanti, minerali, izvlečki alg in kitajskih zelišč ter aktivno oglje. Predvideva se zlasti povečevanje povpraševanja po sestavinah naravnega izvora zaradi vedno večje osveščenosti in težnje potrošnikov za trajnostne in okolju prijazne izdelke iz segmenta naravne oz. ekološke kozmetike (37).

3.1.1 Aktivne sestavine za čiščenje ali tvorbo zaščitnega filma na koži

Preprečevanje odlaganja trdnih delcev in njihove penetracije v kožo oz. odstranjevanje le-teh je primarni pristop za preventivno zaščito kože pred okoljskimi onesnaževali. V ta namen uporabljamo različne površinsko aktivne snovi v kombinaciji s polimeri, ki tvorijo zaščitni film po nanosu na kožo. Vgrajujemo jih v različne kozmetične izdelke za čiščenje in nego kože, pilinge, pa tudi maske, robčke in pršila v obliki meglice (34, 35).

Velik poudarek je na izbiri blagih površinsko aktivnih snovi, ki ne smejo poškodovati kožne bariere, da ne bi še dodatno povečale penetracijo onesnaževal v kožo. V zadnjih letih beležimo visok porast uporabe aktivnega oglja (37), ki ima zaradi velike specifične površine oz. porozne strukture veliko kapaciteto vezave onesnaževal. Podobno delujeta magnezijev aluminijev silikat (pridobljen iz glin) in kaolin. Kavna in riževa zrna uporabljamo v obliki pilingov in obraznih mask za mehansko odstranjevanje onesnaževal. Z nanosom zaščitnega (polimernega) filma lahko preprečimo neposreden stik onesnaževal z roženo plastjo. V ta namen uporabljamo različne sestavine sinteznega (silikoni, kopolimeri akrilne kisline) in naravnega (polisaharidi) izvora. Za-

nimiva je uporaba biotehnološko pridobljenega derivata sorbitola rastlinskega izvora, t. i. Biosaccharide gum-4, z visoko stopnje adhezije, ki po nanosu tvori zaščitni film in kožo ščiti pred onesnaževali in UV-sevanjem, ali zmesi tunbovega in repičnega olja, katerih homogen in prožen film ščiti kožo pred vdorom delcev (35).

3.1.2 Aktivne sestavine za krepitev kožne bariere in hidracije kože

Izpostavljenost onesnaževalom vodi v okrnjeno kožno bariero, zaradi česar se še povečata obseg in globina njihove penetracije v kožo. To še dodatno poslabša strukturno urejenost najbolj zunanje plasti kože, tj. rožene plasti, ki je ključna za učinkovito barierno funkcijo kože. Zaradi poškodovane bariere se poveča transepidermalna izguba vode in zmanjša hidracija rožene plasti, zato koža postane suha, hrapava, razpokana in na videz bolj upadla. Za ponovno vzpostavitev kožne bariere in s tem tudi hidratiranosti kože so ključni lipidi, kjer je poglobitvega pomena pravilna lamelarna strukturna urejenost medceličnih lipidov rožene plasti. V okviru raziskave *in vivo* so poročali o izrazitem izboljšanju poškodovane kožne bariere po nanosu polsinteznih derivatov fitoceramidov, primarno pridobljenih iz rastlinskih olj. Izboljšanje je bilo neposredno povezano z uporabo zmesi fitoceramidov z dolžino verig maščobnih kislin, podobno tistim v koži, in sposobnostjo tvorbe lamelarnih struktur (38).

Z namenom izboljšanja hidracije kože se v izdelke vključuje izvleček jerihonske rože (*Selaginella lepidophylla*), katerega film zmanjša transepidermalno izgubo vode in preprečuje nalaganje trdnih delcev, deluje pa tudi antioksidativno in spodbuja proliferacijo celic (35). Izvlečkom alg so dokazali sposobnost zadrževanja vlage v koži in ugodno delovanje na barierno funkcijo kože zaradi vsebnosti polisaharidov (39). Wang in sod. so potrdili izjemno sposobnost adsorpcije in zadrževanja vode izvlečka rjave alge *Saccharina japonica*, in sicer so nizkomolekularni sulfatirani polisaharidi (zlasti fukoidan) izkazovali celo boljše vlažilno delovanje v primerjavi s hialuronsko kislino. V raziskavi so proučevali še izvlečke rdečih in zelenih alg in ugotovili, da sposobnost adsorpcije vode in njenega zadrževanje korelira z nižjo molekularno maso in stopnjo sulfatiranja polisaharidov (40).

3.1.3 Antioksidanti

V zraku prisotna onesnaževala izčrpajo antioksidativne encime ali znižajo vsebnost antioksidantov. Antioksidanti, večinoma naravnega izvora, so zato bistvena in ena najpogostejših sestavin zaščitnih izdelkov proti okoljskim



onesnaževalom. Zaradi dobre antioksidativne zaščite je znana uporaba izvlečkov čajevca (*Camellia sinensis*), lažnega ali ameriškega popra (*Schinus molle*), japonske kamelije ali zimske čajne vrtnice (*Camellia japonica*) in številnih drugih rastlin (36, 41). Antioksidativno delovanje odlikuje tudi izvlečke alg, kar je odraz vsebnosti polifenolnih spojin (npr. florotanina) ter sulfatiranih polisaharidov (npr. ulvana, karagenana ali fukoidana v zelenih, rdečih ali rjavih algah) (36). Antioksidante naravnega izvora podrobneje predstavljamo v ločenem članku te številke Farmacevtskega vestnika (str. 20).

3.1.4 Aktivne sestavine za preprečevanje razgradnje kolagena in elastina ter izboljšanje mehanskih lastnosti kože

Vpletenost onesnaževal v procese razgradnje strukturnih proteinov kože, primarno kolagena in elastina v usnjici, vodi v poslabšanje čvrstosti in elastičnosti kože, kar se odraža v vidnih znakih staranja. Posledično je smiselna vgradnja sestavin, ki zavirajo razgradnjo proteinov in celokupno izboljšajo čvrstost oz. mehanske lastnosti kože. V raziskavi, kjer so proučevali delovanje izvlečka japonske morske alge *Undaria pinnatifida* (s 85-odstotno vsebnostjo fukoidana) in izvlečka alge *Fucus vesiculosus* (s 60- ter 30-odstotno vsebnostjo fukoidana ter polifenolov), so *in vitro* potrdili zaviranje proteaznih encimov kolagenaze in elastaze ter zmanjšan obseg glikacije, ugoden učinek pa so nadalje potrdili v okviru klinične raziskave, kjer so po 60-dnevnem nanosu gela z ekstraktom *F. vesiculosus* (0,3 % m/v) opazili 45-odstotno izboljšanje videza gub (42).

3.1.5 Aktivne sestavine za preprečevanje hiperpigmentacije

Onesnaževala vplivajo na biosintezo melanina in tako vodijo v neenakomerno pigmentacijo oz. hiperpigmentacijo kože z značilnimi temnimi pigmentnimi madeži, t. i. starostne ali sončne pege. Posvetlitveni učinek izvlečkov številnih morskih alg zaradi inhibicije encima tirozinaze in nižje vsebnosti melanina je dobro poznan (39) in potrjen tako v testiranjih *in vitro* kot *in vivo* (42). Prav tako številni rastlinski izvlečki, med njimi izvlečki origana (*Origanum vulgare*), aloe vere (*Aloe vera*) in murve (*Morus alba*), po različnih poteh zavirajo melanogenezo in pripomorejo k bolj svetli in enakomerno pigmentirani koži (41).

3.1.6 Aktivne sestavine s protivnetnim delovanjem

Onesnaževala sprožijo vnetno kaskadno reakcijo v koži, zato je smiselna uporaba kozmetično aktivnih sestavin, ki

omilijo znake kožnega vnetja, rdečine in nenazadnje staranja kože pod vplivom vnetnih mediatorjev. Kim in sod. so naredili pregled izvlečkov alg s protivnetnim delovanjem glede na mehanizem delovanja (39), Binic in sod. pa povzeli rastlinske izvlečke (41). Protivnetno delovanje je pogosto pridruženo antioksidativnemu delovanju, npr. v primeru izvlečka zelenega čaja (*C. sinensis*) (43) ali olja semen maline (*Rubus idaeus*) (44).

3.1.7 Sestavine za podporo mikrobiote kože

Zaradi vse večjega zavedanja o pomenu zdrave mikrobiote kože se intenzivno razvija področje kozmetičnih izdelkov, ki so namenjeni ohranjanju njenega ravnovesja (19). V ta namen proučujejo prebiotike (spodbujajo rast zdrave kožne mikrobiote), probiotike (sevi koži koristnih mikroorganizmov) in postbiotike (izvlečki in lizati probiotičnih sevov). Dokazano pozitivne učinke na kožo imajo npr. postbiotiki, pridobljeni iz rodov *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* in *Streptococcus*. Slednji zavirajo kolonizacijo površine kože z znanim patogenom *Staphylococcus aureus*, ki ima potrjeno vlogo v patogenezi atopijskega dermatitisa. Nenazadnje lahko z uporabo probiotikov oz. njihovih produktov dosežemo tudi antioksidativne učinke na kožo, saj nekateri sevi izražajo npr. encim superoksid dismutazo in glutation (45).

Izven okvirjev izbire ustrezne kozmetično aktivne sestavine ali njihove kombinacije, so izzivi pri formuliranju kozmetičnega izdelka za zaščito kože pred onesnaženostjo večplastni. Z ene strani so pogojeni z vrsto onesnaževala in stopnjo onesnaženosti, po drugi strani s tipom kože, tudi z ozirom na etnično pripadnost, in njenim stanjem ter nenazadnje s pričakovani posameznika. Zaznavna je tudi vrzel med sicer visoko zaskrbljenostjo potrošnikov glede okoljskih onesnaževal in dvomom, da lahko s tovrstnimi kozmetičnimi izdelki učinkovito zaščitijo kožo. Prav tako je pri izdelkih za zaščito pred onesnaženostjo na kitajskem trgu v splošnem bolj poudarjen učinek hidratacije in beljenja kože, na japonskem pa zaščita pred soncem ter posvetlitveni in vlažilni učinek. Na področju Evrope in Severne Amerike prednjačijo izdelki proti staranju, s protivnetnim in regenerativnim delovanjem, navadno z visoko vsebnostjo antioksidantov in vitaminov. Tako je razumljivo, da je funkcija zaščite pred onesnaženostjo okolja pogosto pridružena kozmetičnim izdelkom, katerih primarna vloga je učinek proti staranju ali zaščita pred soncem, posvetlitev in vlažilna nega kože (35). Smernice za izbiro kozmetičnega izdelka za zaščito pred onesnaženostjo glede na tip in stanje kože, ki z določenimi nastavki nakazujejo na personaliziran pristop izbire kozmetičnega izdelka, so predstavljene v preglednici 1.

Preglednica 1: Smernice za formuliranje kozmetičnih izdelkov za zaščito pred onesnaženostjo glede na tip/stanje kože; povzeto po (35).

Table 1: Guidelines for formulating anti-pollution cosmetic products in relation to skin types/conditions; adapted from (35).

Tip/stanje kože	Formulacijski pristopi
Utrujena ali mastna koža	Globinsko čiščenje, piling, uporaba polimerov, ki tvorijo dodaten zaščitni film na površini kože in/ali odbijajo prašne delce
Suha in poškodovana koža	Nadomeščanje/obnova medceličnih lipidov rožene plasti, krepitev kožne bariere
Izrazito suha, hrapava koža	Izboljšanje hidratacije kože, zmanjšanje transepidermalne izgube vode, nadomeščanje sestavin naravnega vlažilnega dejavnika
Koža z vidnimi znaki staranja: gubami, drobnimi linijami, izgubo volumna	Preprečevanje nastanka radikalov, uporaba antioksidantov in kelatorjev
Neenakomerno pigmentirana koža	Kontrola biosinteze melanina (inhibicija tirozinaze), regulacija prenosa melanosomov
Zrela, manj čvrsta koža	Stimuliranje biosinteze kolagena/elastina, preprečevanje razgradnje proteinov
Pordela, občutljiva, vneta koža z aknami	Uporaba snovi s protivnetnim/pomirjujočim delovanjem

4 VREDNOTENJE UČINKOVITOSTI IZDELKOV ZA ZAŠČITO KOŽE PRED OKOLJSKIMI ONESNAŽEVALI

Dandanes so na voljo številni izdelki z navedbami za zaščito kože pred okoljskimi onesnaževali. Njihovo število samo še narašča, pri tem pa se postavlja vprašanje glede učinkovitosti in vrednotenja le-te. Izpostavljenost kože onesnaženemu okolju se odraža v spremenjeni sestavi in oksidaciji lipidov in proteinov, spremembi pH vrednosti in izločanju sebuma ter prisotnosti mediatorjev vnetja in oksidativnega stresa. Omenjene spremembe pogosto uporabljajo kot kazalnike za vrednotenje oglaševalskih navedb oz. učinkovitosti izdelkov. Vrednotenje učinkovitosti zahteva poglobljeno poznavanje mehanizmov delovanja posameznega onesnaževala ter njegovih (značilnih in merljivih) učinkov na koži. Na voljo sicer ni enotnega standardiziranega testa kot tudi ne soglasja, kateri kazalnik(i) so najbolj relevantni. Vsekakor pa je treba pri označevanju ter oglaševanju slediti Uredbi EU 655/2013, katere skupna merila zajemajo navedbe o skladnosti izdelka z zakonodajo, verodostojnosti, dokaznem gradivu o delovanju kozmetičnega izdelka, odkritosti, pravičnosti in ozaveščenega odločanja (46, 47).

4.1 VREDNOTENJE *IN VIVO*

Vrednotenje zaščite kože pred okoljskimi onesnaževali *in vivo* izvajamo na prostovoljcih, pogosto so v testiranju vklju-

čene osebe, ki so že sicer bolj izpostavljene onesnaževalom, tj. živijo na območjih z visoko stopnjo onesnaženosti ali so kadilci. Testiranje v večini primerov zahteva nanos zmesi onesnaževal na kožo prostovoljcev, zato je zahtevana predhodna pozitivna ocena etične sprejemljivosti poteka raziskave. Za oceno stanja kože uporabljamo neinvazivne metode. Tako je npr. zmes sebuma, prsti in onesnaževal na osnovi ogljikovih delcev, t. i. »Sebollution«, namenjena vrednotenju čistilnega učinka formulacij. Pri tem vrednotimo fotografije, ki so zajete pred in po nanosu zmesi ter po čiščenju s testiranim izdelkom. Meritve transepidermalne izgube vode omogočajo vrednotenje barierne funkcije kože, medtem ko za oceno draženja kože vrednotimo barvo kože preko kromometričnih parametrov. Zaščitni učinek izdelkov proti posledicam cigaretne dima lahko ovrednotimo s spremljanjem tvorbe skvalen hidroperoksida in malondialdehida kot kazalnikov oksidativnega stresa kože, njuna vsebnost se namreč značilno poviša tekom lipidne peroksidacije. Prostovoljci najprej nanesejo zaščitni izdelek, po izpostavitvi cigaretne dimu pa omenjena kazalnika določimo v vzorcu odvzetega sebuma s površine kože. Tako pridobljeni podatki so zanesljivi in dober odraz realnega stanja, ne omogočajo pa razumevanja dogodkov na molekularni ravni. Glavna omejitev je ustrezna interpretacija rezultatov zaradi omejenega števila vključenih prostovoljcev in visoke interindividualne variabilnosti kožnih parametrov (18).

4.2 VREDNOTENJE *IN VITRO*

Vrednotenje *in vitro* ima prednost nadzorovanih pogojev eksperimenta ter omogoča razumevanje delovanja ones-

naževal na ravni celičnih mehanizmov, sta pa razlaga rezultatov in korelacija s sistemom *in vivo* zahtevni. Vrednotenje *in vitro* najpogosteje izvajamo na enoplastnih celičnih linijah keratinocitov in fibroblastov, na rekonstruiranih človeških kožnih modelih ali izolirani človeški koži (pridobljeni npr. po plastičnih operacijah). Izbrani model izpostavimo zmesi onesnaževal, ozonu ali UV-sevanju. Glavna pomanjkljivost je odsotnost klinične slike. Tako za oceno škodljivega učinka onesnaževal uporabljamo različne celične parametre, npr. določanje sproščenih interleukinov (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8), prostaglandinov (PGE2) ali TNF- α v supernatantu s pomočjo ELISE in/ali vrednotenje citotoksičnost s testi celične proliferacije, npr. test aktivnosti mitohondrijske dehidrogenaze (MTT/MTS test), oz. izgube integritete celične membrane (npr. sproščanje encima laktat dehidrogenaze iz celic s poškodovano membrano (test LDH). Zelo pogosto vrednotimo nastanek radikalov oz. sposobnost antioksidativne zaščite po izpostavljenosti onesnaževalom oz. antioksidantom (npr. z metodo FRAP) ali oceno kožne integritete z določanjem strukturnih proteinov (prenos Western), meritvami upornosti na celičnih linijah ali celo *ex vivo* z določanjem malondialdehida kot kazalnika lipidne peroksidacije ali vsebnosti težkih kovin v vzorcih rožene plasti, odvzetih s tehniko *tape-stripping*. Možno je tudi proučevanje na ravni izražanja genov z metodo RT-qPCR za npr. interleukine ali CYP1B1, ki je povezan z aktivacijo AhR, ali za proteine, pomembne za strukturno integriteto kože (kolagen, elastin, metaloproteaze) (18).

5 SKLEP

Onesnaženost okolja ima izreden vpliv na kakovost življenja in zdravje posameznika. Tako je razumljiv velik (tržni) potencial kozmetičnih izdelkov za zaščito kože zaradi neposredne in stalne izpostavljenosti škodljivim vplivom okoljskih onesnaževal. Pristopi za zaščito kože so različni, v prvi vrsti je to preprečevanje odlaganja trdnih delcev oz. njihove penetracije v kožo. Zaščitna vloga pred onesnaženostjo okolja je pogosto pridružena kozmetičnim izdelkom, katerih primarna vloga je učinek proti staranju ali zaščita pred soncem, posvetlitev in vlažilna nega kože. Pri tem je velik podarek na sestavinah naravnega izvora, kar je v skladu z naraščajočim segmentom naravne kozmetike, ki je po mnenju uporabnikov koži in okolju bolj prijazna. Gledano v

luči onesnaženosti okolja, ko se zdi problem na globalni ravni na trenutke nerešljiv, so (kozmetični) izdelki za zaščito kože več kot zgolj trend, so realnost, ki (žal) ostaja.

6 FINANCIRANJE

Delo je bilo izvedeno v sklopu programa ARRS P1-0189 in projekta ARRS L4-4564.

7 LITERATURA:

1. World Health Organization. *Ambient Air Pollution: A Global Assessment of Exposure and Burden of Disease*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2016; pp. 1–131.
2. World Health Organization. *Air pollution*. [cited 2023 January 31]. Available from: https://www.who.int/health-topics/air-pollution#tab=tab_1
3. Hendricks AJ, Eichenfield LF, Shi VY. *The impact of airborne pollution on atopic dermatitis: a literature review*. *Br J Dermatol*. 2020;183:16-23.
4. Mancebo SE, Wang SQ. *Recognizing the impact of ambient air pollution on the skin*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(12):2326-32.
5. World Health Organization. *Ambient air pollution: Health impacts 2018*. <https://www.who.int/airpollution/ambient/healthimpacts/en/>. WH O 2018
6. Lee WS, Lee KS, Lee S, Sung M, Lee SJ, Jee HM, et al. *Home Remodeling and Food Allergy Interact Synergistically to Increase the Risk of Atopic Dermatitis*. *BioMed Res Int*. 2017;2017:3793679.
7. Kim JK, Kim HJ, Lim DH, Lee YK, Kim JH: *Effects of Indoor Air Pollutants on Atopic Dermatitis*. *Int J Environ Res and Public Health*. 2016;13.
8. REPUBLIKA SLOVENIJA GOV.SI [Internet]. *Obstojna organska onesnaževala*. [cited 2022 November 22]. Available from: <https://www.gov.si teme/obstojna-organska-onesnazevala/>
9. Uredba (EU) 2019/1021 *Evropskega parlamenta in Sveta z dne 20. junija 2019 o obstojnih organskih onesnaževalih (prenovitev) (Besedilo velja za EGP)* (2019/1021).
10. NIJZ [Internet]. *Dioksini, furani in PCB v živilih oziroma hrani*. [cited 2022 November 22]. Available from: <https://www.nijz.si/sl/dioksini-furani-in-pcb-v-zivilih-ozioroma-hrani>
11. Bonamonte D, Filoni A, Vestita M, Romita P, Foti C, Angelini G. *The Role of the Environmental Risk Factors in the Pathogenesis and Clinical Outcome of Atopic Dermatitis*. *BioMed Res Int*. 2019;2019:2450605.
12. Oh I, Lee J, Ahn K, Kim J, Kim Y-M, Sim CS, Kim Y. *Association between particulate matter concentration and symptoms of atopic dermatitis in children living in an industrial urban area of South Korea*. *Environ Res*. 2018;160:462-8.

13. Jin SP, Li Z, Choi EK et al. Urban particulate matter in air pollution penetrates into the barrier-disrupted skin and produces ROS-dependent cutaneous inflammatory response in vivo. *J Dermatol Sci*. 2018;91:175-83.
14. Kim HJ, Bae IH, Son ED, Cha N, Na HW, et al. Transcriptome analysis of airborne PM2.5-induced detrimental effects on human keratinocytes. *Toxicol Lett*. 2017;273:26-35.
15. Okolje.info [Internet]. Trdni delci (PM10 in PM2.5). [cited 2022 November 22]. Available from: <http://www.okolje.info/index.php/kakovost-zraka/trdni-delci>
16. Kampa M, Castanas E. Human health effects of air pollution. *Environ Pollut*. 2008;151:362-7.
17. Kirinčič S. Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) v hrani in njihov vpliv na zdravje. eNBOZ, 2015.
18. Rembiesa J, Ruzgas T, Engblom J, Holefors A. The Impact of Pollution on Skin and Proper Efficacy Testing for Anti-Pollution Claims. *Cosmetics*. 2018;5:4.
19. Kocbek P. Mikrobiota zdrave kože – zastavljena zaščitna bariera. *Farm vest*. 2021;4:242-8.
20. Prescott SL, Larcombe DL, Logan AC, West C. et al. The skin microbiome: Impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *World Allergy Organ J*. 2017;10:29.
21. Ray PD, Huang BW, Tsuij Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012; 24:981-90.
22. Osredkar J. Oksidativni stres. *Zdrav Vestn*. 2012; 81:393-406.
23. Lefebvre MA, Pham DM, Boussouira B et al. Evaluation of the impact of urban pollution on the quality of skin: a multicentre study in Mexico. *Int J Cosm Sci*. 2015;37:329-38.
24. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative Stress in Aging Human Skin. *Biomolecules*. 2015;5:545-89.
25. Stejskalova L, Dvorak Z, Pavek P. Endogenous and Exogenous Ligands of Aryl Hydrocarbon Receptor: Current State of Art. *Curr Drug Metab*. 2011;12(2):198-212.
26. Napolitano M, Patruno C. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) a possible target for the treatment of skin disease. *Med Hypotheses*. 2018;116:96-100.
27. Kim HO, Kim JH, Chung BY, Choi MG, Park CW. Increased expression of the aryl hydrocarbon receptor in patients with chronic inflammatory skin diseases. *Exp Dermatol*. 2014;23:278-81
28. Merches K, Haarmann-Stemmann T, Weighardt H, Krutmann J, Esser C. Ch. AHR in the skin: From the mediator of chloracne to a therapeutic panacea? *Curr Opin Toxicol*, 2017;2:79-86.
29. Morita A, Torii K, Maeda A, Yamaguchi Y. Molecular Basis of Tobacco Smoke-Induced Premature Skin Aging. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2009;14: 53-5.
30. Choi H, Shin DW, Kim W et al. Asian dust storm particles induce a broad toxicological transcriptional program in human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett*. 2011;200:92-9.
31. Portugal-Cohen M, Oron M, Cohen D, Ma'or Z. Antipollution skin protection – A new paradigm and its demonstration on two active compounds. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2017;10:185-93.
32. Li Q, Kang Z, Jiang S, Zhao J, Yan S, Xu F, et al. Effects of ambient fine particles PM2.5 on human HaCaT cells. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14:72.
33. Kim SY, Sim S, Choi HG. Atopic dermatitis is associated with active and passive cigarette smoking in adolescents. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187453.
34. Future Market Insight [Internet]. Anti-Pollution Skin Care Products Market. [updated 2021 September; cited 2022 December 23]. Available from: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/anti-pollution-skin-care-products-market>
35. Mistry N. Guidelines for Formulating Anti-Pollution Products. *Cosmetics*. 2017;4(57).
36. Juliano C, Magrini GA. Cosmetic Functional Ingredients from Botanical Sources for Anti-Pollution Skincare Products. *Cosmetics* 2018;5(1):19.
37. Future Market Insight [Internet]. Anti-pollution Ingredients Market. [updated 2022 July; cited 2022 December 23]. Available from: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/anti-pollution-ingredients-market>.
38. Oh MJ, Cho YH, Cha SY, Lee EO, Kim JW, Kim SK, et al. Novel phytoceramides containing fatty acids of diverse chain lengths are better than a single C18-ceramide N-stearoyl phytosphingosine to improve the physiological properties of human stratum corneum. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017;13(10):363-71.
39. Kim JH, Lee J-E, Kim KH, Kang NJ. Beneficial Effects of Marine Algae-Derived Carbohydrates for Skin Health. *Mar Drugs*. 2018 Nov;16(11):459.
40. Wang J, Jin W, Hou Y, Niu X, Zhang H, Zhang Q. Chemical composition and moisture-absorption/retention ability of polysaccharides extracted from five algae. *Int J Biol Macromol*. 2013; 57:26–29.
41. Binic I, Lazarevic V, Ljubenovic M, Mojsa J, Sokolovic D. Skin ageing: natural weapons and strategies. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013:827248.
42. Fitton JH, Dell'acqua G, Gardiner V, Karpinić S, Stringer DN, Davis E. Topical Benefits of Two Fucoïdan-Rich Extracts from Marine Macroalgae. *Cosmetics*. 2015;2(2):66-81.
43. Katiyar SK, Ahmad N, Mukhtar H. Green tea and skin. *Arch Dermatol*. 2000 Aug; 136(8):989-94.
44. Ispiryán A, Viškelis J, Viškelis P. Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Seed Oil: A Review. *Plants* 2021, 10, 944.
45. Lee GR, Maarouf M, Hendricks AJ et al. Topical probiotics: the unknowns behind their rising popularity. *Dermatol Online J*. 2019;25.
46. Critical Catalyst [Internet]. "Anti-pollution" claims in cosmetic products. [updated 2020 August 3; cited 2022 December 12]. Available from: <https://criticalcatalyst.com/anti-pollution-claims-in-cosmetic-products/>
47. EUR-Lex [Internet]. UREDBA KOMISIJE (EU) št. 655/2013 z dne 10. julija 2013 o določitvi skupnih meril za utemeljitev navedb, uporabljenih v zvezi s kozmetičnimi izdelki. [cited 2022 December 7]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/?uri=CELEX%3A32013R0655>



KANABIDIOL (CBD) IN KOŽA

CANNABIDIOL (CBD) AND THE SKIN

AVTORICA / AUTHOR:

doc. dr. Eva Tavčar, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: eva.tavcar@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Kanabidiol (CBD) je kanabinoid, ki ga najdemo v konoplji (*Cannabis sativa* L.), ki je znana kot rastlina s številnimi možnostmi uporabe. Stebla konoplje uporabljamo kot vir vlaken za izdelavo različnih materialov, semena za uporabo v hrani, cvetove in liste pa za pridobivanje kanabinoidov. Kanabinoidi so skupina terpenofenolnih spojin, ki kot sekundarni metaboliti nastajajo v žleznih laskih ali trihomih, ter skupaj z aromatičnimi in hlapnimi terpeni in terpenoidi sestavljajo konopljinu smolo (1).

Zaradi farmakološkega delovanja kanabinoidov so konopljo uporabljali že pred tisočletji. Razširjena je bila v ajurvedski medicini, od koder jo je iz indijskega okolja v sodobno oz. zahodno medicino vpeljal irski zdravnik William O'Shaughnessy. Tinkture iz konoplje so izdelovala številna farmacevtska podjetja, dokler niso leta 1961 njene uporabe prepovedali s konvencijo Združenih narodov. Razlog za prepoved je bila psihoaktivnost kanabinoida Δ 9-tetrahidrokanabinola (Δ 9-THC), ki omamlja tako, da med drugim slabša ravnotežje, orientacijo, koordinacijo, koncentracijo in spomin. Kemijske strukture Δ 9-THC in drugih kanabinoidov še niso bile poznane in proizvajalci niso mogli proiz-

POVZETEK

Kanabidiol (CBD) je zelo aktualna sestavina tako v svetu dermatoloških kot tudi kozmetoloških raziskav. Dermatiki s CBD kot zdravilno učinkovino, ki bi imeli dovoljenje za promet z zdravilom, še niso v uporabi, je pa CBD s strani Evropske komisije dovoljena kozmetična sestavina za zaščito in ohranjanje dobrega stanja kože, za uravnavanje izločanja sebuma ter kot antioksidant. CBD je v človeškem telesu aktiven v endokanabinoidnem sistemu, ki je odgovoren za vzdrževanje ravnovesja med celicami in njihovim okoljem. V endokanabinoidnem sistemu kože deluje tako na endokanabinoidne receptorje kot tudi po drugih mehanizmih, s katerimi celice vzdržujejo homeostazo. V raziskavah na področju medicine ugotavljamo njegovo delovanje predvsem pri zdravljenju atopijske kože, luskavice, aken, kožnih tumorjev in pri celjenju ran. V prispevku smo se osredotočili predvsem na neodvisne raziskave učinkov CBD na kožo.

KLJUČNE BESEDE:

akne, atopijska koža, luskavica, kanabidiol (CBD), vnetje

ABSTRACT

Cannabidiol (CBD) is a very interesting ingredient both in the world of dermatological research and cosmetic science. Dermal medicines with CBD as an active ingredient with marketing authorisation are not yet in use. However, the European Commission has approved CBD as a cosmetic ingredient with anti-sebum, antioxidant, skin-protecting and skin-conditioning effects. In the human body, CBD is active in the endocannabinoid system, which is responsible for maintaining the balance between cells and their environment. In the endocannabinoid system of the skin, it acts on endocannabinoid receptors and by other mechanisms, by which the cells maintain homeostasis. In medicinal research, CBD is being researched in the treatment of atopic skin, psoriasis, acne, skin tumours and in the healing of wounds. Within the scope of the article, we focused primarily on independent research on the effects of CBD on the skin.

KEY WORDS:

acne, atopic skin, cannabidiol (CBD), inflammation, psoriasis

vesti standardiziranih pripravkov z znano vsebnostjo teh farmakološko aktivnih spojin. Zato je prihajalo do neželenih učinkov ali do nedelovanja zdravil. Poleg tega so k prepo-vedi prispevali tudi politični in gospodarski razlogi (1).

Kot posledica je bila konoplja znanstveno zelo slabo raziskana. Šele v začetku 60. let prejšnjega stoletja so odkrili strukturi kanabinoidov Δ^9 -THC in CBD, ki v konoplji prevladujeta in sta tudi najbolj zaslužna za njene farmakološke učinke. To je vodilo do odkritja endokanabinoidnega sistema v začetku 90. let, omogočilo bolj usmerjeno raziskovanje same rastline ter posledično razvoj zdravil. Predmet tega članka je le eden od številnih kanabinoidov iz konoplje: CBD, ki nima psihoaktivnih učinkov in je bil zaradi politične ureditve konoplje predolgo prezrt, premalo raziskan in premalo izkoriščen kot kozmetična sestavina in zdravilna učinkovina (1).

Uporaba CBD je uradno dovoljena tako v zdravilih, prehranskih dopolnilih, za katera je potrebno pridobiti posebno dovoljenje za promet, saj ima status t. i. novega živila, kot tudi v kozmetičnih izdelkih. CBD je s strani Evropske komisije dovoljena kozmetična sestavina. V podatkovni bazi Cosing (*Cosmetic Ingredient Database*) je naveden kot sestavina za zaščito in ohranjanje dobrega stanja kože, za uravnavanje izločanja sebuma ter kot antioksidant. To velja le za izolirano čisto spojino, brez prisotnosti drugih kanabinoidov. Njegov izvor pri tem ni pomemben; lahko je pridobljen tako z izolacijo iz konoplje kot tudi sintezno. V tem članku se osredotočamo le na prečiščen CBD in ne na izvlečke ali druge snovi iz konoplje.

2 ENDOKANABINOIDNI SISTEM

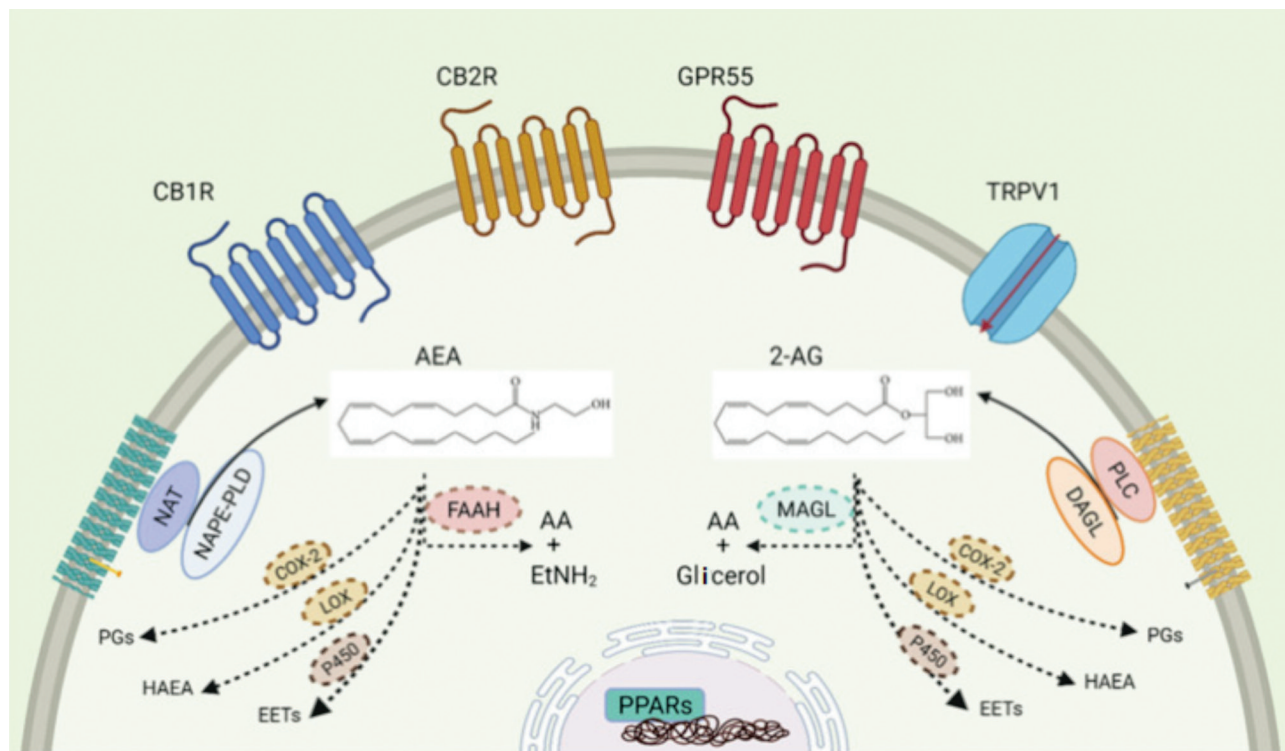
Endokanabinoidni sistem je farmakološki sistem, ki je prisoten pri vseh vretenčarjih. S kanabinoidi zato zdravimo tudi živali, ki predstavljajo ustrezen model za raziskave delovanja kanabinoidov. S proteinom G sklopljeni kanabinoidni receptorji so prisotni po vseh tkivih človeškega telesa. Najbolj zastopan receptor je kanabinoidni receptor 1 (CB1R). Najdemo ga v tkivih živčnega sistema, predvsem možganih in hrbtenjači. Njegovo izražanje korelira z nivoji gama aminomaslene kisline (GABA) in od glutamata odvisnih ionskih kanalov. CB1R se nahaja presinaptično na inhibitornih GABA-ergičnih in ekscitatornih glutamatergičnih nevronih. Njegova aktivacija inhibira signale, ki jih prenašata GABA in glutamat. V manjši meri CB1R najdemo tudi v večini pe-

rifernih tkiv. Povezujemo ga s psihoaktivnimi učinki kanabinoidov, pri čemer je Δ^9 -THC agonist z močno vezavo. CB2R je značilen predvsem za imunski sistem, zato ga imenujemo tudi receptor imunokanabinoidnega sistema. Prisoten je na limfocitih B in T, naravnih celicah ubijalkah, monocitih in v imunskih organih, kot so hrbtenjača, vranica, mandlji in priželjci. V centralnem živčnem sistemu so CB2R odkrili predvsem v novotvorbah (3).

Kanabinoidi aktivirajo tudi druge skupine receptorjev, čeprav niso njihovi glavni ligandi. Ionske kanale prehodnega receptorskega potenciala vaniloida (TRPV) najdemo v centralnih nevronih, perivaskularnih senzoričnih živcih, imunskih celicah, kot so makrofagi, mastociti, dendritične ali Langerhansove celice, v endotelijskih in epitelinih celicah, sebocitih, keratinocitih, lasnih mešičkih, znojnicah ter v celicah gladkih mišic. Na senzoričnih nevronih kože so kolokalizirani s CB1R. Povezani so s prevajanjem dražljajev, kot so svetlobni, okušalni, električni, temperaturni, mehanski in osmotski, njihova aktivnost pa se kaže z vnetjem, bolečino in srbenjem. Signalizacija TRPV v odvisnosti od tkiva, v katerem se nahajajo, deluje sinergistično, antagonistično ali neodvisno od stimulacije CB1R in CB2R. Kanabinoidi delujejo tudi na druge receptorje, sklopljene preko proteinov G (GPR55 in GPR18), in receptorje, aktivirane s proliferatorjem peroksisoma (PPAR α in PPAR γ) (3).

Naravne ligande za kanabinoidne receptorje imenujemo endokanabinoidi. Gre za eikozanoidne spojine, to so maščobne kisline iz 20 ogljikovih atomov, ki se selektivno vežejo na endokanabinoidne receptorje. *N*-Arahidonoiletanolamin (AEA), ki ga imenujemo tudi anandamid, so odkrili leta 1992, 2-arahidonoilglicerol (2-AG) pa 1995 v možganih prašiča. Poznamo tudi *O*-arahidonoiletanolamin (virodhamin), *N*-arahidonoil-dopamin (NADA), arahidonil-2'-kloroetilamid (2-AGE), *N*-palmitoiletanolamid (PEA), oleiletanolamin (OEA), stearoiletanolamin (SEA) in linoleoiletanolamin (LEA). Slednji ne aktivira kanabinoidnih receptorjev, temveč interagira z encimi endokanabinoidnega sistema (3, 4).

Endokanabinoide kategoriziramo v skupino nevromodulatorjev, čeprav se v nekaj lastnostih ne ujemajo s tipičnimi neurotransmiterji. Sintetizirajo se po potrebi, lokalno na mestu, kar je stimulirano s strani receptorske zanke v prekurzorjih membranskih lipidov. Niso v sinaptičnih veziklih. Lipofilna narava jim omogoča, da aktivirajo encime v citosolu in transmembranskih predelih, kjer lahko interagirajo s strukturami lipoproteinov. Izven živčnega sistema so glavni vir endokanabinoidov endotelijske celice in makrofagi (3, 4). Skica sinteznih in razgradnih poti endokanabinoidov AEA in 2-AG ter kanabinoidnih receptorjev je prikazana na sliki 1.



Slika 1: Sintezne in razgradne poti endokanabinoidov ter kanabinoidni receptorji. AEA (N-arahidonoiletanolamid) nastane z encimsko hidrolizo membranskih fosfolipidov. Ko se membrana depolarizira in se poveča nivo kalcija, N-aciltransferaza (NAT) iz fosfatidilholina preko fosfatidiletanolamina katalizira sintezo arahidonske kisline (AA) v N-arahidonoilfosfatidiletanolamin (NAPE). Sledi hidroliza NAPE s fosfolipazo D (NAPE-PLD) do AEA. Nivo AEA je kontroliran z membranskim prenašalcem anandamida (AMT), ki odstrani AEA iz zunajceličnega prostora, in hidrolazo amida maščobne kisline (FAAH), ki prispeva k znotrajcelični razgradnji AEA do arahidonske kisline in etanolamina (Et₂NH₂). 2-AG nastane iz fosfolipidnih prekurzorjev s fosfolipazo C (PLC) in diacilglicerol lipazo (DAGL), razgrajuje pa se z monoacilglicerol lipazo (MAGL) do arahidonske kisline in glicerola. Razgradnja AEA in 2-AG poteka tudi preko ciklooksigenaze-2 (COX-2) in 5-, 12-, 15-lipooksigenaz (LOX) ter citokromov P450 do različnih eikozanoidov. Prirejeno po Izzo in sod. (4).

Figure 1: Synthesis and degradation pathways of endocannabinoids and cannabinoid receptors. AEA (N-arachidonoyl ethanolamine) is produced by enzymatic hydrolysis of membrane phospholipids. When the membrane is depolarised and calcium levels increase, N-acyltransferase (NAT) catalyses the synthesis of arachidonic acid (AA) to N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine (NAPE) from phosphatidylcholine via phosphatidylethanolamine. This is followed by the hydrolysis of NAPE by phospholipase D (NAPE-PLD) to AEA. AEA levels are controlled by anandamide membrane transporters (AMT), which remove AEA from the extracellular space, and fatty acid amide hydrolase (FAAH), which contributes to the intracellular degradation of AEA to arachidonic acid and ethanolamine (Et₂NH₂). 2-AG is formed from phospholipid precursors by phospholipase C (PLC) and diacylglycerol lipase (DAGL) and degraded by monoacylglycerol lipase (MAGL) to arachidonic acid and glycerol. Degradation of AEA into 2-AG also takes place via cyclooxygenase-2 (COX-2) into 5-, 12-, 15-lipoxygenase (LOX) and cytochromes P450 to various eicosanoids. Adapted from Izzo et al. (3).

CBD nima neposredne afinitete na CB1R in CB2R, temveč regulira njuno aktivnost, aktivnost celic T-pomagalk, interferona gama, interleukina 17 in keratinocitov. Pravzaprav na CB1R deluje kot nekompetitivni antagonist oz. negativni alosterični modulator. Veže se na njegovo N-končno domeno in spremeni vezavo agonistov (5). Na CB2R ima približno štirikrat večjo afiniteto kot na CB1. CBD aktivira tudi PPAR γ , ki so del procesov uravnavanja metabolizma lipidov, izražanja jetrnega peroksisomskega encima, občutljivosti

na inzulin, metabolizma glukoze in vnetja. Je antagonist GPR55 (6).

Imunokanabinoidni sistem je izraz, ki se vedno bolj uveljavlja v znanstvenem jeziku zaradi vedno več podatkov o pomembnosti kanabinoidov v imunskem sistemu. Kanabinoidni sistem sodeluje pri uravnavanju homeostaze med humoralnim in celičnim odzivom. Bistveno večji pomen kot receptorji CB1R, ki prevladujejo v živčnem sistemu, imajo v tem sistemu receptorji CB2R. Aktivacija CB2R navadno

vodi v supresijo imunskega odziva in proizvodnjo dušikovega oksida. Kanabinoidi zmanjšujejo proizvodnjo provnetnih citokinov in kemokinov. Njihov učinek pa je zelo odvisen od tipa celic, njihove koncentracije in okolja (7).

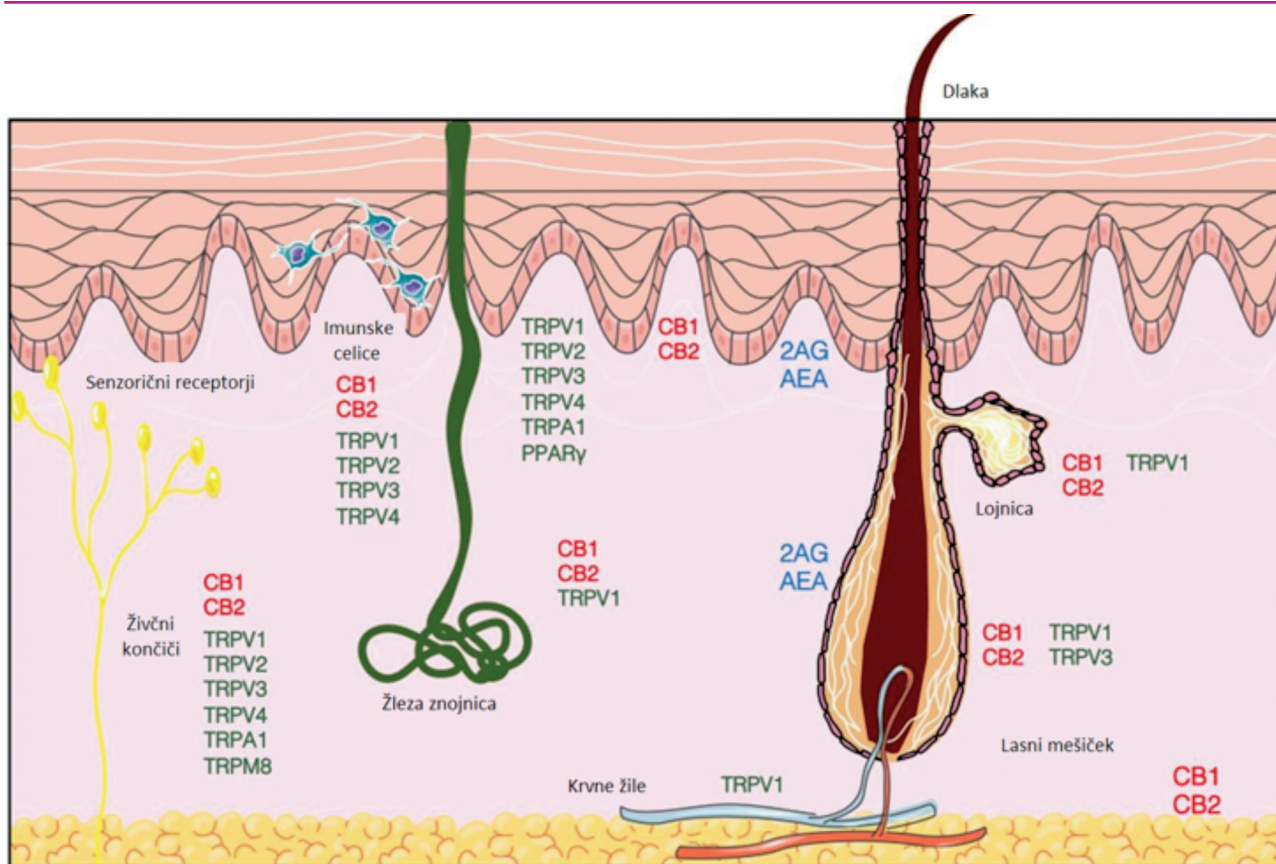
Raziskave v 90. letih so privedle do spoznanja, da ima koža lastni endokanabinoidni sistem, in ga povezale z različnimi biološkimi procesi (5). Domnevajo, da je njegova glavna fiziološka funkcija neprestano uravnavanje pravilnega in uravnoteženega procesa proliferacije in diferenciacije, pa tudi imunske sposobnosti oz. odpornosti. CB1R najdemo v senzoričnih nevronih, in sicer na velikih mieliniziranih živčnih vlaknih v papilarnem dermisu, na majhnih živčnih vlaknih, povezanih z lasnimi mešički, ter na živčnih vlaknih v povrhnjici (slika 2). V trnasti in zrnati plasti povrhnjice kože se CB1R izražajo v keratinocitih, lasnih foliklih, žlezah lojnicah in znojnicah, na melanocitih, mastocitih in Langerhansovih celicah. V keratinocitih so odkrili tudi druge označevalce endokanabinoidnega sistema, AMP, FAAH in NAPE-PLD. CB2R najdemo v velikih mieliniziranih snopih

živčnih vlaken usnjice, majhnih nemieliniziranih živčnih papilarnih plasti usnjice in na živcih v bazalni membrani kože. Nahajajo se v keratinocitih, lasnih foliklih, sebocitih in imunskih celicah. V živcih kože, žlezah znojnicah, lasnih foliklih in usnjici najdemo tudi TRPV1-4 (3, 8).

Endokanabinoidni sistem je torej ključen dejavnik v homeostazi kože in pomembno vpliva na kožne patofiziološke procese. V skladu s povečanjem raziskav na to temo se uveljavlja izraz kutanabinoidni sistem (kutani kanabinoidni sistem) oz. *c(ut)anabinoid system* (5).

3 FORMULACIJE DERMALNIH IZDELKOV S CBD

CBD raziskujejo tako za dermalno kot transdermalno uporabo. Sistemski učinki CBD, ki jih navadno dosežemo z



Slika 2: Endokanabinoidni sistem kože; prirejeno po del Río s sod. (8).

Figure 2: Endocannabinoid system of the skin; adapted from del Río et al. (7).

aplikacijo transdermalnih farmacevtskih oblik, kot so transdermalni obliži, niso tema tega članka, je pa njegovo prehajanje skozi kožo treba upoštevati pri formuliranju in oceni varnosti dermalnih pripravkov, pri katerih sistemski učinki niso zaželeni. Poznavanje prehajanja CBD v kožo je ključnega pomena, kadar želimo doseči prehajanje in delovanje v globljih plasteh kože. Čeprav je CBD ustrezno majhna molekula, jo pri prehajanju omejuje njena hidrofobnost; logP znaša med 6 in 7. Zato za povečanje prodiranja CBD v in skozi kožo uporabljamo pospeševalce penetracije. Učinkoviti kemijski pospeševalci so npr. alkoholi in oleinska kislina. CBD je tudi izredno slabo vodotopen, zato ga vgrajujemo v nanodelce, ciklodekstrine ter liposome in penetracijo pospešujemo s fizikalnimi tehnikami, kot so mikroigle, elektroporacija, sonoforeza (ultrazvok), magnetoforeza ter iontoforeza (9). Kot dober vehikel za transdermalno aplikacijo CBD so npr. prepoznali zmes propilenglikola in vode v razmerju 4 : 1 v obliki hidrofilnega gela. Povečan obseg dermalne absorpcije dosežemo tudi z vgradnjo v parafinska olja in lipofilna mazila. Kljub boljši topnosti CBD v olivnem olju in PEG400 pa je bila permeacija s tema vehikloma bistveno manjša kot v propilenglikolu (10). Med lastnostmi, ki so pomembne z vidika formuliranja, je še temperatura tališča CBD, ki je pri atmosferskem tlaku 67,5 °C (2).

Tijani in sod. so v svoji pregledni raziskavi povzeli številne inovativne farmacevtske oblike in napredne dostavne sisteme s CBD za zdravljenje raznolikih indikacij. Koža je torej brez dvoma ustrezno mesto za delovanje in dostavo CBD in raziskave tega področja so trenutno v polnem razmahu (11).

4 FARMAKOLOŠKI UČINKI CBD NA KOŽO

Jhavar in sod. ugotavljajo, da potrošniki CBD prepoznavajo kot »protivnetno, analgetično, hidratantno in vlažilno sredstvo, sredstvo za zmanjševanje gub ter proti staranju kože, pa tudi za zdravljenje aken, ekcemov, luskavice in srbečice« predvsem zaradi ponudbe izdelkov na trgu, ki se opirajo na rezultate predkliničnih raziskav. Kliničnih dokazov je zaenkrat malo, zato avtorji objavo zaključujejo z mnenjem, da trg s ponudbo kozmetičnih izdelkov in oglaševanjem »prehiteva« obstoječe znanstvene dokaze (12). Ugotavljamo, da potekajo številne klinične raziskave predvsem izdelkov, ki so zaščiteni kot intelektualna lastnina. Zaradi

komercialne narave teh raziskav pa jih v tem članku ne bomo obravnavali, temveč smo pregledali področje obstoječih neodvisnih raziskav.

Raziskave antioksidativne aktivnosti CBD dokazujejo, da ga lahko uvrstimo v skupino antioksidantov. Na več ravneh regulira redoks procese, od neposredne antioksidativne aktivnosti do vpliva na različne skupine receptorjev, kar je pomembno za vse indikacije, omenjene v nadaljevanju. Njegova funkcija pa je odvisna od koncentracije in v določenih okoljih lahko izrazi tudi prooksidativne učinke (13).

4.1 ATOPIJSKA KOŽA IN SRBEČICA

Za atopijski dermatitis je značilna nenormalna permeabilnost kože, pri čemer imajo pomembno vlogo ceramidi in prisotnost velikih količin citokina interferona gama (IFN γ), ki povzročata vnetje. Kronično vnetje kože se pojavlja v obliki pruritusa, to je neprijetne in lokalizirane srbečice in spremljajočim eritemom oz. rdečino. Navadno so to tudi simptomi raznolikih bolezni kože ali sistemskih bolezni. Kanabinoidi dokazano delujejo proti vnetju in srbečici in zato predstavljajo potencial za zdravljenje atopijskega in alergijskega kontaktnega dermatitisa. Mehanizmi delovanja so raznoliki, od delovanja na CBR in kemokine do vplivanja na imunski sistem (3). Kozela in sod. so na celičnih modelih ugotovili, da CBD deluje imunosupresivno. Inhibira migracijo, proliferacijo in zorenje celic. Zmanjšal je aktivnost limfocitov T in posledično tudi zavrl odziv, posredovan z limfociti B. Spremenil je namreč izražanje genov limfocitov T tako, da so postali neodzivni na antigene preko povečanja izražanja gena zgodnjega rastnega odziva (EGR2), kar je vodilo tudi do zmanjšanja prepoznavanja antigena pri limfocitih B (14).

V drugi raziskavi so pri z UV-svetlobo tretiranih keratinocitih opazili antioksidativno delovanje CBD preko zaviranja jedrnega transkripcijskega dejavnika κ B (NF κ B) ter aktivacije regulatorja antioksidativnih procesov Nrf2. Proteinski kompleks NF κ B ob okužbi sproži izločanje citokinov, kemokinov in adhezijskih molekul ter uravnava celično proliferacijo, apoptozo, morfogenezo in diferenciacijo ter je tako ključen dejavnik pri aktivaciji imunskega odgovora, protein Nrf2 pa regulira izražanje genov antioksidativnih proteinov in je ključen za antioksidativno zaščito celic ob poškodbi in vnetju. CBD je pomembno okrepil tudi aktivnosti antioksidativnih encimov, kot sta superoksidna dismutaza in tioredoksin reduktaza, ter preprečil lipidno peroksidacijo (15).

Zaščitno vlogo CBD na zdravih 3D keratinocitnih celičnih kulturah fibroblastov, obsevanih z UVA/B-svetlobo, so ra-

ziskali Gęgotek in sod. CBD je zmanjšal nastajanje provnetnih ter *de novo* proteinov. Okrepil je z UV-svetlobo inducirano nastajanje proteasomskih podenot 20S in zaščetil proteinske strukture pred vezavo 4-hidroksinonenala (HNE), kar vpliva predvsem na antioksidativne encime (16). Sorodna raziskovalna skupina je opazovala nastanek proteinskih aduktov, ki nastanejo po izpostavitvi keratinocitov oksidantu vodikovemu peroksidu. CBD je z zmanjšanjem oksidativnega stresa in vzdrževanjem proteinske homeostaze preprečil z vodikovim peroksidom povzročeno škodo na proteom membran. Avtorji menijo, da bi s CBD lahko učinkovito preprečili prooksidativno in provnetno škodo, ki se izrazi kot neželeni učinek razkuževanja kože in terapije ran z vodikovim peroksidom (17).

Ti dve raziskavi so potrdili tudi s kemijsko analizo s kromatografijo, sklopljeno z masno spektrometrijo. Ugotovili so, da je CBD zmanjšal škodljive učinke UVB-sevanja in vodikovega peroksida tako, da je prodril v keratinocite, se vgradil v celične membrane ter tam zmanjšal oksidativni stres in oksidacijo fosfolipidov, proteinov in sialične kisline. Preprečil je zmanjšanje velikosti keratinocitov in zeta potenciala ter zmanjšal aktivnost membranskih transporterjev, ki vežejo ATP (18). Rezultate so nadalje okrepili s proteomsko študijo 148 proteinov, ki je pokazala pomemben vpliv CBD pri zmanjšanju škode, povzročene z UVA/B-sevanjem, ki se izrazi v obliki porušenega redoks ravnotežja, vnetja in apoptoze. CBD je pomagal normalizirati oz. ohraniti homeostazo proteinov z moduliranjem njihove biosinteze in razgradnje (19). Łuczaj in sod. pa so na modelu podgan *in vivo* ugotovili, da je dermalno apliciran CBD pomembno povečal nastajanje plazemskih etrov PEA in ceramidov. Ko pa so CBD nanесли na kožo, obsevano z UVA/B-svetlobo, je to vodilo do zmanjšane nastajanja lizofosfolipidov, vnetnih PGE₂ in tromboksanov 2 (TxB₂) ter povečanje protivnetnega lipoksina A4. Tako se je testirana skupina približala kontroli brez obsevanja. Zaključili so, da CBD v koži uravnava metabolizem lipidov, obnavlja redoks ravnovesje in zmanjšuje vnetje v plazmi podgan, obsevanih z UV-žarki, kar je ugodno pri terapiji atopijskega dermatitisa (20).

Ugodnega vpliva dermalno apliciranega CBD po škodi, povzročeni z UVA/B-sevanjem, pa niso opazili le na keratinocitih, temveč tudi v plazmi podgan. Gre za CBD, ki preko kože prehaja v sistemski krvni obtok. Pomembno se je spremenilo nastajanje številnih protivnetnih in signalnih proteinov: zaviralca NFκB, proteina 14-3-3, protein kinaze C, keratina in proteina S100. CBD je preprečil tudi lipidno peroksidacijo. CBD je v krvi tvoril adukte s s prolinom bogatim proteinom 30, transkripcijskim faktorjem 19 in *N*-

acetilglukozamin-6-sulfatazo ter spremenil njihove aktivnosti. To predstavlja tudi pomembno izhodišče za nadaljnje raziskovanje (21). Tudi v drugi raziskavi so ugotovili ugodne sistemske učinke CBD, ki se je absorbiral skozi kožo v kri. Vgradil se je v membrane polimorfonuklearnih levkocitov, kar je vodilo v zmanjšanje reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS) in povečalo antioksidativno kapaciteto preko povečanja glutation in tioredoksin reduktaz ter zmanjšalo nivo reducirane glutaciona. CBD je zmanjšal 2-AG, saj je to zmanjšalo aktivacijo CB1R in povečalo aktivacije PPARγ ter vplivalo na zmanjšanje ROS in dejavnika tumorske nekroze (TNFα), ki je inhibitor protitumorskih procesov v celicah (22).

Dokazali so tudi, da CBD v keratinocitih inducira antioksidativne poti preko vplivanja na Bach1. Gre za transkripcijski dejavnik, ki uravnava mehanizme, vključene v proizvodnjo ROS, celični cikel, homeostazo hema, hematopoezo in imunost (23). V manjši klinični raziskavi so Maghfour in sod. preskušali 14 bolnikov z atopijskim dermatitisom, ekcemom in srbečico po aplikaciji gela z 1 % CBD ter dime-tikona in polisilikona-11 kot pomožnih snovi. Po dvotedenski terapiji so ugotovili pomembno zmanjšanje ekcema, srbečice in z njima povezano izboljšanje kakovosti življenja. Dva bolnika s kožo, ki je bila poškodovana od praskanja, sta predčasno izstopila iz raziskave zaradi občutka zbadanja in poslabšanja ekcema, kar kaže na previdnost pri nanašanju snovi na sveže ranjeno kožo (24). Mogi in sod. so v retrospektivni raziskavi na osmih psih, ki so že prejeli različne terapije atopijskega dermatitisa, ugotovili izboljšanje srbečice po dveh tednih peroralne aplikacije 0,125 mg/kg telesne mase CBD dvakrat dnevno ter zaključili, da je CBD lahko pomemben dodatek k terapiji za izboljšanje kakovosti življenja (25). Loewinger in sod. pa so na 29 psih z atopijskim dermatitisom izvedli štiritredensko prospektivno, randomizirano, dvojno slepo in s placebom preverjeno raziskavo. Ugotovili so, da terapija s CBD in CBDA v enakem razmerju, raztopljenima v sezamovem olju in peroralno apliciranim v obliki kapsul v odmerkih 4,48 mg/kg telesne mase, ni pomembno vplivala na kožne lezije, je pa izboljšala srbečico (26). Glede na te rezultate lahko sklepamo na ugodnejše učinke dermalne v primerjavi s peroralno uporabo, kar je treba raziskati v prihodnosti.

4.2 LUSKAVICA

Luskavica ali psoriza je kronična vnetna kožna bolezen, za katero so značilna žarišča zadebeljene in pordele kože, ki se lušči. Ena od možnosti zdravljenja luskavice je fototerapija z UVB-svetlobo, pogosto v kombinaciji s protivnetno



delujočimi spojinami. Geĝotek in sod. so ugotovili, da je uporaba CBD ohranila metaloproteaze in njihove inhibitorje tako pri zdravih keratinocitih kot tistih, ki so jih izolirali iz bolnikov z luskavico, zlasti pri tistih, ki so bili izpostavljeni UVB-sevanju. Metaloproteaze so encimi, ki pri celjenju tkiva razgrajujejo proteinske strukture, npr. kolagen, ter tako pomembno prispevajo k remodulaciji in obnovi tkiva. CBD je zmanjšal tudi vrednosti ravnih dejavnikov in označevalcev angiogeneze (novotvorb). Hkrati se je protivnetni učinek CBD pokazal z znižanjem ravni TNF α v keratinocitih zdrave kože ter s povečanjem ravni TNF α pri psoriatičnih keratinocitih, predvsem tistih, ki so bili izpostavljeni UVB-žarkom (27).

Sorodna raziskovalna skupina je primerjala vpliv CBD na redoks ravnotežje in metabolizem fosfolipidov keratinocitov, ki so jih izolirali iz kože bolnikov z luskavico, s keratinociti, izoliranimi iz kože zdravih prostovoljcev, obe skupini pa so dodatno izpostavili UVA/B-svetlobi. Ugotovili so, da se CBD pri zdravih keratinocitih enakomerno razporedi med citosol in celično membrano, njegov privzem v celico pa se poveča ob izpostavitvi UV-svetlobi. Več se ga akumulira tudi v psoriatične keratinocite, še posebej v njihove membrane, saj oksidativni stres spremeni njihove strukture. CBD je zmanjšal aktivnost določenih membranskih prenašalcev, kar nakazuje na zmanjšanje prepustnosti kože, ki se pojavi zaradi obsevanja oz. zaradi luskavice. Pri zdravih keratinocitih je CBD pri kontrolni in obsevani skupini zmanjšal oksidativno neravnovesje tako, da je zmanjšal nastajanje ROS. Pri keratinocitih bolnikov z luskavico pa CBD ni zmanjšal nastajanja ROS predvsem pri obsevani skupini, kar je pomemben podatek za uporabo fototerapije pri zdravljenju luskavice. Pri zdravih keratinocitih so ob prisotnosti CBD-ja ugotovili zmanjšano razgradnjo glavnega endogenega antioksidanta glutaciona, vitaminov A in E ter produktov lipidne peroksidacije ter povečano prisotnost encima glutation peroksidaze, kar dokazuje zmanjšanje oksidativnih procesov. Pri obsevani skupini bolnikov z luskavico je CBD nivo glutaciona ter vitaminov A in E celo znižal in zaključili so, da CBD ni preprečil oksidacije. Pri psoriatičnih keratinocitih pa so po drugi strani zaznali večje zmanjšanje produktov lipidne peroksidacije kot pri zdravih keratinocitih. CBD je povečal nivo endogenega antioksidanta tioredoksina tako pri zdravih kot psoriatičnih keratinocitih, njegov razgradni encim tioredoksin reduktaza pa se je povečal samo pri psoriatičnih keratinocitih. CBD je povzročil, da se AEA pri zdravih keratinocitih ni znižal, PEA pa se pri psoriatičnih keratinocitih ni povišal, kar se je odražalo tudi na prisotnosti razgradnih encimov FAAH in MAGL. Povečal je nastanek receptorjev CB1 v psoriatičnih kerati-

nocitih ter pri obeh skupinah, izpostavljenih svetlobi. Pri skupinah, ki nista bili obsevani, je povečal ekspresijo receptorja bolečine TRPV1. Pri obeh skupinah je CBD povečal ekspresijo CB2R, razen pri skupini, tretirani samo z UV-sevanjem. Kot vidimo, sta tako antioksidativno kot kannabinoidno delovanje CBD močno odvisna od okolja in se med zdravimi in bolnimi celicami razlikujeta. V grobem pa so avtorji raziskave zaključili, da je CBD zmanjšal oksidativni stres v keratinocitih zdravih posameznikov, medtem ko je glede na določene označevalce povečal oksidativni stres in vnetno stanje v keratinocitih bolnikov z luskavico, še posebej po UV-obsevanju (28). Zelo podobno raziskavo so objavili Szachowicz-Petelska in sod. (29).

Terapijo luskavice preko vpliva na apoptozo celic so raziskovali tudi Wójcik s sod. Potrdili so, da CBD ali UVB-obsevanje dodatno povečata apoptozo keratinocitov, ki spremlja razvoj psorize. Sam CBD na keratinocite ni imel vpliva, v kombinaciji z UVB-sevanjem pa je zmanjšal škodo tako na zdravih kot psoriatičnih keratinocitih, saj je znižal določene vnetne dejavnike in aktivator apoptoze kaspazo 8 ter povečal ekspresijo modulatorja apoptoze Bcl2. CBD je vplival na povečanje mediatorja apoptoze p-Akt le pri celicah, tretiranih z UVB-svetlobo. Zmanjšanje apoptoznih signalnih poti s CBD so torej zaznali bolj pri zdravih kot pri psoriatičnih keratinocitih (30). Isti avtorji so v drugi raziskavi ugotovili, da je CBD zmanjšal zunajcelične pasti, ki jih ustvarijo nevtrofilci (NET) z zmanjšanjem pretiranega nastajanja ROS. Pojav je bil bolj izražen pri psoriatičnih kot zdravih celicah (31). Kot kažejo rezultati več raziskav torej CBD bolj ščiti zdrave kot psoriatične keratinocite ter tiste, ki so izpostavljeni UV-svetlobi, kar predstavlja pomembna izhodišča za nadaljnje raziskovanje zdravljenja luskavice. V dvojno slepi in s placebom preverjeni klinični raziskavi so 51 bolnikom dvanajst tednov na psoriatične lezije aplicirali 2,5-odstotno mazilo s CBD. Poročali so o izboljšanjem stanju rdečice, luščenja in zatrdlin (32). Vela in sod. pa so raziskali vpliv CBD na psoriatični artritis in osteoartritis. Dvanajst tednov so na dvojno slepi in s placebom nadzirani način 129 bolnikom aplicirali 20 do 30 mg CBD, pomembne razlike v izboljšanju stanja med skupinama niso ugotovili (33). Tudi pri luskavici torej obstajajo sicer zelo šibki pokazatelji superiornosti dermalne aplikacije v primerjavi s peroralno.

4.3 AKNE IN SEBOREJA

Akne so pogosta bolezen kože, za katero je značilno povečano nastajanje kožne maščobe oz. sebuma ter vnetje žlez lojnic. Neravnovesje vodi do hipersekrecije sebuma,

ki se nadaljuje s hiperproliferacijo keratinocitov ali sebocitov ter razrastom značilnih bakterij (*Cutibacterium acnes*), ki inducirajo vnetne citokine ter akne (34, 35). V raziskavi, ki so jo izvedli Oláh in sod. na humanih sebocitih SZ95, je CBD aktiviral ionske kanale TRPV4. To je sprožilo prolipogensko pot ERK1/2 MAPK, kar se je izrazilo v zaviranju z jedrnim receptorjem interagirajočega proteina-1 (NRIP1). Tako se je CBD v šestdnevni terapiji izkazal kot supresor proliferacije sebocitov in inhibiral lipogenezo. Inhibiral je tudi sintezo lipidov, inducirano z arahidonsko kislino ter kombinacijo linolenske kisline in testosterona, ki so znani induktorji patološke lipogeneze, vse v od odmerka odvisnih koncentracijah. Sebostazno aktivnost so nato ugotovili tudi na predklinični ravni, pri čemer je CBD zavrnil ekspresijo proliferacijskega proteinskega označevalca MKI67 *in situ*. (36).

Jiang in sod. so na humanih epidermalnih keratinocitih povečali zunajcelične vezikle z bakterijami *Cutibacterium acnes*. Ob izpostavitvi CBD so ugotovili, da je zavrnil nastanjanje vnetnih citokinov (IL-6, IL-8 in TNF- α), povečal izražanje CB2R ter zmanjšal izražanje TRPV1 preko inaktivacije signalnih poti MAPK in NF- κ B (37). CBD se je torej predklinično izkazal kot potencialno preventivno sredstvo oz. zdravilna učinkovina za zdravljenje aken. Raziskovanje te indikacije se nadaljuje na klinični ravni predvsem v obliki intelektualno zaščitene formulacij (11).

4.4 CELJENJE RAN

CBD je v nižjih koncentracijah spodbudil fibrotično povečanje sluznice dlesni s povečanjem proizvodnje transformirajočega ravnega faktorja β za 40 % in fibronektina za 100 %, hkrati pa zmanjšal nastanek in aktivnost metalo-proteaz. Velike koncentracije CBD pa so imele ravno nasprotni učinek (38). CB2R uravnavajo makrofage in fibroblaste med vnetjem in procesom celjenja ran ter predstavljajo uporaben označevalec starosti rane (39). Vpliv CBD na celjenje ran bi lahko povezali tudi z njegovim možnim protibakterijskim delovanjem na grampozitivne bakterije, ki so ga ugotovili pri zdravljenju v kombinaciji z antibiotikom bacitracinom. Učinkovitost antibiotika je povečal za 64-krat (40).

4.5 RAKAVE BOLEZNI

Ena najbolj razvpitih lastnosti kanabinoidov je, da jim pripisujemo protirakave lastnosti. Zaradi njih nekateri bolniki opustijo konvencionalno zdravljenje, kar še prispeva h kontroverznosti področja in stigmati s strani zdravstvenega

osebja. Kljub temu je vedno več znanja o protitumornemu delovanju kanabinoidnih spojin, saj inducirajo apoptozo, zavirajo proliferacijo in migracijo tumorskih celic, zmanjšajo nastajanje proangiogenih snovi in njihovih receptorjev, zmanjšajo vaskularno hiperplazijo in modulirajo transdukcijo signalov preko CBR v različnih celičnih linijah. Te učinke so opazili pri gliomih, limfomih, raku prostate, dojke, pljuč in trebušne slinavke ter pri kožnih malignomih (3). Zaradi kompleksnosti endokanabinoidnega sistema ter kancerogeneze pa moramo biti zelo previdni pri enostranskih napovedih protitumornih učinkov, saj se mehanizmi delovanja lahko hitro obrnejo v protumorno smer. Poleg tega sočasno jemanje kanabinoidov lahko vpliva na farmakokinetiko in posledično delovanje drugih zdravil, npr. kemoterapevtikov (41).

Melanom je najpogostejša oblika kožnega raka. V okviru raziskav *in vivo* na mišjih modelih z melanomskimi tumorji so ugotovili pomembno zmanjšanje velikosti tumorjev ob peritonealnem injiciranju CBD v primerjavi s placebom, vendar manj kot v skupini, tretirani s cisplatinom. Od vseh skupin pa sta bili kakovost življenja in fizična aktivnost najboljši v skupini miši, tretiranih s CBD (42). S testom MTT, s katerim ugotavljamo preživetje metabolično aktivnih celic preko kolorimetrične detekcije aktivnosti mitohondrijskega encima sukcinat dehidrogenaze so ugotovili, da je CBD v koncentracijah 5 do 80 μ M zavrnil rast različnih celičnih linij po naraščajočem vrstnem redu: ledvičnih rakavih celic Renca, normalnih fibroblastov NIH3T3, melanomskih celic B16, pljučnih rakavih celic A549, celic raka debelega črevesa SNU-C4 ter najbolj izrazito rakavih celic dojke MDA-MB-231. Citotoksičnost CBD se je izrazila tudi preko povečanja indikatorjev apoptoze laktat dehidrogenaze in kaspaz (43). Do podobnih rezultatov so prišli na melanomskih celičnih linijah miši pri koncentracijah do 0,2 mg/mL. Testirali so tudi standardiziran izvleček konoplje z vsebnostjo CBD 4 %, ki je pomembno induciral nekrozo melanomskih celic, tako ob prisotnosti obsevanja z gama žarki in brez. Na melanomskih celicah so raziskali tudi beljakovini Tau in Stathmin, ki čezmerno nastajata pri metastazah raka in prispevata k progresiji bolezni tako, da povečata proliferacijo, invazijo rakavih celic ter inducirata odpornost na zdravila. Ugotovili so, da je 4-odstotni standardizirani izvleček CBD pomembno znižal izražanje teh genov ter zmanjšal migracijo celic v primerjavi s kontrolo (6). Potrebno pa se je zavedati, da avtorji niso navedli vsebnosti drugih snovi v izvlečku, na primer Δ 9-THC, ki je zelo verjetno pomembno prispeval k rezultatom.

Peroralno delovanje $\Delta 9$ -THC in $\Delta 9$ -THC/CBD v okvirnem razmerju 1 : 1 so preizkušali Armstrong in sod. na melanomskih tumorjih miši ter skupini primerjali s skupino, peritumoralno tretirano s kemoterapevtikom temozolomidom. Zaključili so, da sta $\Delta 9$ -THC, še bolj pa kombinacija $\Delta 9$ -THC/CBD učinkovitejša od temozolomida v indukciji apoptoze in protitumorskega odziva (44). Podobne izsledke o citotoksičnosti CBD na nekožnih rakavih celicah najdemo v številnih raziskavah (6). Kaposijev sarkom je tumor endoteljskega izvora z več kožnimi lezijami, katerega etiološki povzročitelj je s Kaposijevim sarkomom povezan herpes virus (KSHV), znan tudi kot humani herpesvirus 8 (HHV-8). CBD je zavrl proliferacijo in induciral apoptozo pri s KSHV okuženih človeških dermalnih mikrovaskularnih endoteljskih celicah, ni pa vplival na inficiranje celic. CBD je zaviral nastajanje KSHV virusnega receptorja, vezanega na protein G (vGPCR), njegovega agonista, proteina α , ki je reguliran z rastjo kemokinov (GRO- α), receptorja vaskularnega endoteljskega rastnega dejavnika 3 (VEGFR-3) in njegovega liganda vaskularnega endoteljskega rastnega faktorja C (45). O nasprotnem učinku pa so nekaj let prej poročali za $\Delta 9$ -THC, ki je povečal nastajanje receptorja KSHV, vezanega na virusni protein G, in virusno obremenitev v mikrovaskularnih endoteljskih celicah človeške kože (46). To pomeni, da je $\Delta 9$ -THC deloval prorakavo, kar je še posebej pomemben pokazatelj kompleksnosti endokanabinoidnega sistema in nujnosti nadaljnjih raziskav.

5 SKLEP

CBD je nedvomno snov z učinkom na kožo, ki je primerna za uporabo v dermalnih izdelkih z namenom preprečevanja vnetnih procesov, ki vodijo do številnih kožnih nepravilnosti in boleznih. Je priznana kozmetična sestavina za zaščito in ohranjanje dobrega stanja kože, za uravnavanje izločanja sebuma ter kot antioksidant. Farmakološke in klinične raziskave intenzivno raziskujejo njegovo delovanje v terapiji atopijskega dermatitisa, luskavice, aken, celjenja ran in kožnega raka. Opazimo, da smo pri CBD kmalu v dilemi, kdaj še govorimo o kozmetični in kdaj že o njegovi zdravilni rabi. Kozmetika je po zakonodaji primerna le za lokalno delovanje in sestavine kozmetičnih izdelkov ne smejo prehajati skozi kožo v kri ali druga tkiva. Zato moramo pri razvoju formulacije posebno pozornost nameniti potencialnemu prehajanju CBD skozi kožo. Potrebno je narediti

strokovno oceno varnosti za vsak kozmetični izdelek posebej. Prehajanje CBD je močno odvisno od formulacije, ki lahko pomembno poveča absorpcijo, od lastnosti kože ter seveda od mesta in površine nanosa. CBD je zaradi prehajanja skozi kožo primeren tudi za doseganje sistemskih učinkov, kjer pa smemo uporabljati le zdravila. V kolikor izdelku pripišemo zdravilno delovanje, spada v področje zakonodaje zdravil ne glede na to, ali je namenjen lokalnemu ali sistemskemu delovanju. V tem primeru je potrebno ravnanje z izdelkom v skladu z zakonom o zdravilih, ki zahteva farmakokinetične podatke ter klinične dokaze o učinkovitosti. Zaenkrat dermalnih zdravil s CBD, ki bi imela dovoljenje za promet z zdravili, na trgih razvitih držav še ni na voljo. Vendar razmah kliničnih raziskav v zadnjih letih nakazuje, da CBD predstavlja obetajoč potencial tudi za vgradnjo v dermatike.

6 LITERATURA

1. Gosenca Matjaž M, Tomašič T. Uporaba kanabinooidov. In Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo; 2019 [cited 2023 Feb 4]. Available from: <http://www.ffa.uni-lj.si/knjiznica/e-knjige>
2. Stinchcomb AL, Valiveti S, Hammell DC, Ramsey DR. Human skin permeation of $\Delta 8$ -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabiol. *J Pharm Pharmacol.* 2004;56(3):291–7.
3. Kupczyk P, Reich A, Szepietowski JC. Cannabinoid system in the skin - a possible target for future therapies in dermatology. *Exp Dermatol.* 2009 Aug;18(8):669–79.
4. Iozzo M, Sgrignani G, Comito G, Chiarugi P, Giannoni E. Endocannabinoid System and Tumour Microenvironment: New Intertwined Connections for Anticancer Approaches. *Cells.* 2021 Dec;10(12):3396.
5. Tóth KF, Ádám D, Bíró T, Oláh A. Cannabinoid Signaling in the Skin: Therapeutic Potential of the "C(ut)annabinoid" System. *Molecules.* 2019 Mar 6;24(5):918.
6. Ramer R, Wendt F, Wittig F, Schäfer M, Boeckmann L, Emmert S, et al. Impact of Cannabinoid Compounds on Skin Cancer. *Cancers.* 2022 Mar 31;14(7):1769.
7. Rahaman O, Ganguly D. Endocannabinoids in immune regulation and immunopathologies. *Immunology.* 2021;164(2):242–52.
8. Río C del, Millán E, García V, Appendino G, DeMesa J, Muñoz E. The endocannabinoid system of the skin. A potential approach for the treatment of skin disorders. *Biochem Pharmacol.* 2018 Nov 1;157:122–33.
9. Mahmoudinooodezh H, Telukutla SR, Bhangu SK, Bachari A, Cavalieri F, Mantri N. The Transdermal Delivery of Therapeutic Cannabinoids. *Pharmaceutics.* 2022 Feb;14(2):438.
10. Casiraghi A, Musazzi UM, Centin G, Franzè S, Minghetti P. Topical Administration of Cannabidiol: Influence of Vehicle-Related Aspects on Skin Permeation Process. *Pharmaceutics.* 2020 Nov;13(11):337.

11. Tijani AO, Thakur D, Mishra D, Frempong D, Chukwunyere UI, Puri A. Delivering therapeutic cannabinoids via skin: Current state and future perspectives. *J Controlled Release*. 2021 Jun 10;334:427–51.
12. Jhavar N, Schoenberg E, Wang JV, Saedi N. The growing trend of cannabidiol in skincare products. *Clin Dermatol*. 2019 May 1;37(3):279–81.
13. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants*. 2020 Jan;9(1):21.
14. Kozela E, Juknat A, Kaushansky N, Ben-Nun A, Coppola G, Vogel Z. Cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid, leads to EGR2-dependent energy in activated encephalitogenic T cells. *J Neuroinflammation*. 2015 Mar 15;12:52.
15. Jastrzab A, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Cannabidiol Regulates the Expression of Keratinocyte Proteins Involved in the Inflammation Process through Transcriptional Regulation. *Cells*. 2019 Aug 3;8(8):827.
16. Gęgotek A, Atalay S, Rogowska-Wrzesińska A, Skrzydlewska E. The Effect of Cannabidiol on UV-Induced Changes in Intracellular Signaling of 3D-Cultured Skin Keratinocytes. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 2;22(3):1501.
17. Atalay S, Gęgotek A, Domingues P, Skrzydlewska E. Protective effects of cannabidiol on the membrane proteins of skin keratinocytes exposed to hydrogen peroxide via participation in the proteostasis network. *Redox Biol*. 2021 Oct;46:102074.
18. Atalay S, Dobrzyńska I, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Cannabidiol protects keratinocyte cell membranes following exposure to UVB and hydrogen peroxide. *Redox Biol*. 2020 Jun 23;36:101613.
19. Atalay S, Gęgotek A, Wroński A, Domingues P, Skrzydlewska E. Therapeutic application of cannabidiol on UVA and UVB irradiated rat skin. A proteomic study. *J Pharm Biomed Anal*. 2021 Jan 5;192:113656.
20. Luczaj W, Jastrzab A, do Rosário Domingues M, Domingues P, Skrzydlewska E. Changes in Phospholipid/Ceramide Profiles and Eicosanoid Levels in the Plasma of Rats Irradiated with UV Rays and Treated Topically with Cannabidiol. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 13;22(16):8700.
21. Gęgotek A, Atalay S, Skrzydlewska E. UV induced changes in proteome of rats plasma are reversed by dermally applied cannabidiol. *Sci Rep*. 2021 Oct 19;11:20666.
22. Oxidative Stress and Its Consequences in the Blood of Rats Irradiated with UV: Protective Effect of Cannabidiol - PMC [Internet]. [cited 2023 Jan 28]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8224002/>
23. Casares L, García V, Garrido-Rodríguez M, Millán E, Collado JA, García-Martín A, et al. Cannabidiol induces antioxidant pathways in keratinocytes by targeting BACH1. *Redox Biol*. 2020 Jan;28:101321.
24. Maghfour J, Rietcheck HR, Rundle CW, Runion TM, Jafri ZA, Dercon S, et al. An Observational Study of the Application of a Topical Cannabinoid Gel on Sensitive Dry Skin. *J Drugs Dermatol JDD*. 2020 Dec 1;19(12):1204–8.
25. Mogi C, Yoshida M, Kawano K, Fukuyama T, Arai T. Effects of cannabidiol without delta-9-tetrahydrocannabinol on canine atopic dermatitis: A retrospective assessment of 8 cases. *Can Vet J Rev Veterinaire Can*. 2022 Apr;63(4):423–6.
26. Loewinger M, Wakshlag JJ, Bowden D, Peters-Kennedy J, Rosenberg A. The effect of a mixed cannabidiol and cannabidiolic acid based oil on client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2022 Aug;33(4):329-e77.
27. Gęgotek A, Atalay S, Wroński A, Markowska A, Skrzydlewska E. Cannabidiol Decreases Metalloproteinase Activity and Normalizes Angiogenesis Factor Expression in UVB-Irradiated Keratinocytes from Psoriatic Patients. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Oct 13;2021:7624389.
28. Jarocka-Karpowicz I, Biernacki M, Wroński A, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Cannabidiol Effects on Phospholipid Metabolism in Keratinocytes from Patients with Psoriasis Vulgaris. *Biomolecules*. 2020 Feb 28;10(3):367.
29. Szachowicz-Petelska B, Luczaj W, Wroński A, Jastrzab A, Dobrzyńska I. The Differential Effect of Cannabidiol on the Composition and Physicochemical Properties of Keratinocyte and Fibroblast Membranes from Psoriatic Patients and Healthy People. *Membranes*. 2021 Feb;11(2):111.
30. Wójcik P, Gęgotek A, Żarković N, Skrzydlewska E. Disease-Dependent Antiapoptotic Effects of Cannabidiol for Keratinocytes Observed upon UV Irradiation. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 15;22(18):9956.
31. Wójcik P, Garley M, Wroński A, Jabłońska E, Skrzydlewska E. Cannabidiol Modifies the Formation of NETs in Neutrophils of Psoriatic Patients. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 16;21(18):6795.
32. Puaratanaarunkon T, Sittisaksomjai S, Sivapompan N, Pongcharoen P, Chakkavittumrong P, Ingkaninan K, et al. Topical cannabidiol-based treatment for psoriasis: A dual-centre randomized placebo-controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36(9):e718–20.
33. Vela J, Dreyer L, Petersen KK, Arendt-Nielsen L, Duch KS, Kristensen S. Cannabidiol treatment in hand osteoarthritis and psoriatic arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *PAIN*. 2022 Jun;163(6):1206.
34. Mastrofrancesco A, Ottaviani M, Cardinali G, Flori E, Briganti S, Ludovici M, et al. Pharmacological PPAR γ modulation regulates sebogenesis and inflammation in SZ95 human sebocytes. *Biochem Pharmacol*. 2017 Aug 15;138:96–106.
35. Martins AM, Gomes AL, Vilas Boas I, Marto J, Ribeiro HM. Cannabis-Based Products for the Treatment of Skin Inflammatory Diseases: A Timely Review. *Pharmaceuticals*. 2022 Feb;15(2):210.
36. Oláh A, Tóth BI, Borbóó I, Sugawara K, Szöllösi AG, Czifra G, et al. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *J Clin Invest*. 2014 Sep 2;124(9):3713–24.
37. Jiang Z, Jin S, Fan X, Cao K, Liu Y, Wang X, et al. Cannabidiol Inhibits Inflammation Induced by Cutibacterium acnes-Derived Extracellular Vesicles via Activation of CB2 Receptor in Keratinocytes. *J Inflamm Res*. 2022;15:4573–83.
38. Rawal SY, Dabbous MK, Tipton DA. Effect of cannabidiol on human gingival fibroblast extracellular matrix metabolism: MMP production and activity, and production of fibronectin and transforming growth factor β . *J Periodontol Res*. 2012 Jun;47(3):320–9.
39. Zheng JL, Yu TS, Li XN, Fan YY, Ma WX, Du Y, et al. Cannabinoid receptor type 2 is time-dependently expressed during skin wound healing in mice. *Int J Legal Med*. 2012 Sep;126(5):807–14.
40. Wassmann CS, Højrup P, Klitgaard JK. Cannabidiol is an effective helper compound in combination with bacitracin to kill Gram-positive bacteria. *Sci Rep*. 2020 Mar 5;10(1):4112.
41. Souza JDR, Pacheco JC, Rossi GN, de-Paulo BO, Zuardi AW, Guimarães FS, et al. Adverse Effects of Oral Cannabidiol: An Updated Systematic Review of Randomized Controlled Trials (2020–2022). *Pharmaceutics*. 2022 Nov 25;14(12):2598.
42. Simmerman E, Qin X, Yu JC, Baban B. Cannabinoids as a Potential New and Novel Treatment for Melanoma: A Pilot Study in a Murine Model. *J Surg Res*. 2019 Mar;235:210–5.



43. ChoiPark WHD, Baek SH, Chu JP, Kang MH, Mi YJ. Cannabidiol Induces Cytotoxicity and Cell Death via Apoptotic Pathway in Cancer Cell Lines. *Biomol Ther.* 2008;16(2):87–94.
44. Armstrong JL, Hill DS, McKee CS, Hernandez-Tiedra S, Lorente M, Lopez-Valero I, et al. Exploiting Cannabinoid-Induced Cytotoxic Autophagy to Drive Melanoma Cell Death. *J Invest Dermatol.* 2015 Jun 1;135(6):1629–37.
45. Maor Y, Yu J, Kuzontkoski PM, Dezube BJ, Zhang X, Groopman JE. Cannabidiol inhibits growth and induces programmed cell death in kaposi sarcoma-associated herpesvirus-infected endothelium. *Genes Cancer.* 2012 Jul;3(7–8):512–20.
46. Zhang X, Wang JF, Kunos G, Groopman JE. Cannabinoid modulation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection and transformation. *Cancer Res.* 2007 Aug 1;67(15):7230–7.

TARČNO ZDRAVLJENJE KRONIČNE LIMFOCITNE LEVKEMIJE Z ZAVIRALCI FOSFATIDILINOZITOL 3-KINAZE

TARGETING PHOSPHATIDYLINOSITOL 3-KINASE IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

AVTORJI / AUTHORS:

Damjan Avsec, mag. farm.¹

izr. prof. dr. Helena Podgornik, univ. dipl.
inž. kem. inž., spec. med. biok., spec. lab.
med. genetike^{1, 2}

doc. dr. Matevž Škerget, dr. med., spec.
internist in hematolog^{2, 3}

prof. dr. Irena Mlinarič-Raščan, mag. farm.¹

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

² Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični
oddelek za hematologijo, Zaloška cesta 7, 1000
Ljubljana

³ Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: irena.mlinaric@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Kronična limfocitna levkemija (KLL) je najpogostejša levkemija pri odraslih v Sloveniji. Od leta 2014 so za zdravljenje KLL na voljo tarčna zdravila. Zaviralci receptorske poti celic B, ki jih delimo na zaviralce Brutonove tirozin kinaze in na zaviralce fosfatidilinozitol 3-kinaze (PI3K), in antagonisti Bcl-2 predstavljajo pomembne učinkovine za zdravljenje ponovljene/neodzivne KLL. V tem članku smo naredili pregled odobrenih in zaviralcev PI3K v razvoju ter manj raziskanih, vendar pomembnih učinkovin, ki ciljajo tirozin kinazi Syk in Lyn. Predstavili smo njihov klinični razvoj in prihodnost za zdravljenje bolnikov s KLL.

KLJUČNE BESEDE:

duvelizib, idelalizib, kronična limfocitna levkemija, PI3K

ABSTRACT

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common leukemia among adults in Slovenia. Since 2014, target therapies have been available for the treatment of CLL. Inhibitors of the B-cell receptor signalling pathway, which include inhibitors of Bruton tyrosine kinase and inhibitors of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), and Bcl-2 antagonists are important drugs currently available for the treatment of relapsed/refractory CLL. In this paper, we review approved and developing PI3K inhibitors and less researched but important drugs that target Syk and Lyn. We present their clinical development and provide an outlook for using these drugs in the therapy of CLL.

KEY WORDS:

chronic lymphocytic leukemia (CLL), duvelisib, idelalisib, PI3K

1 UVOD

Kronična limfocitna levkemija predstavlja najpogostejšo levkemijo pri odraslih v Sloveniji. Za bolezen je značilno kopičenje na videz zrelih CD19+ monoklonskih limfocitov B (1, 2). Čeprav je zdravljenje KLL sprva temeljilo na kemoterapiji in kemoimunoterapiji, so nova spoznanja o preživetvenih poteh celic B vodila v razvoj in vpeljavo majhnih tarčnih molekul v zdravljenje KLL (3, 4). Te učinkovine so od odobritve 2014 do danes skoraj v celoti izpodrinile kemoterapijo in



kemoimunoterapijo. Bolnikom s KLL so na voljo zaviralci receptorske poti celic B in antagonisti antiapoptotičnih proteinov Bcl-2. Slednje smo predstavili v članku Avsec in sod. (5). Trenutno odobreni zaviralci receptorske poti celic B spadajo med zaviralce Brutonove tirozin kinaze (BTK) in zaviralce fosfatidilinozitol 3-kinaze (PI3K), čeprav v to skupino lahko štejemo tudi učinkovine, ki delujejo na kinazi Syk in Lyn, ki aktivirata BTK, in zaviralce protein kinaze B/Akt, ki jo aktivira PI3K (slika 1). Klinične smernice postavljajo zaviralce BTK pred zaviralce PI3K (4). Razlog za to leži tudi v številnih neželenih učinkih, ki jih imajo zaviralci PI3K. Predvsem je problematičen negativen vpliv na delovanje imunskega sistema, ki ima za posledico življenje ogrožajoče okužbe (6). Zaviralcev Syk in Lyn pa za zdravljenje KLL še niso odobrili.

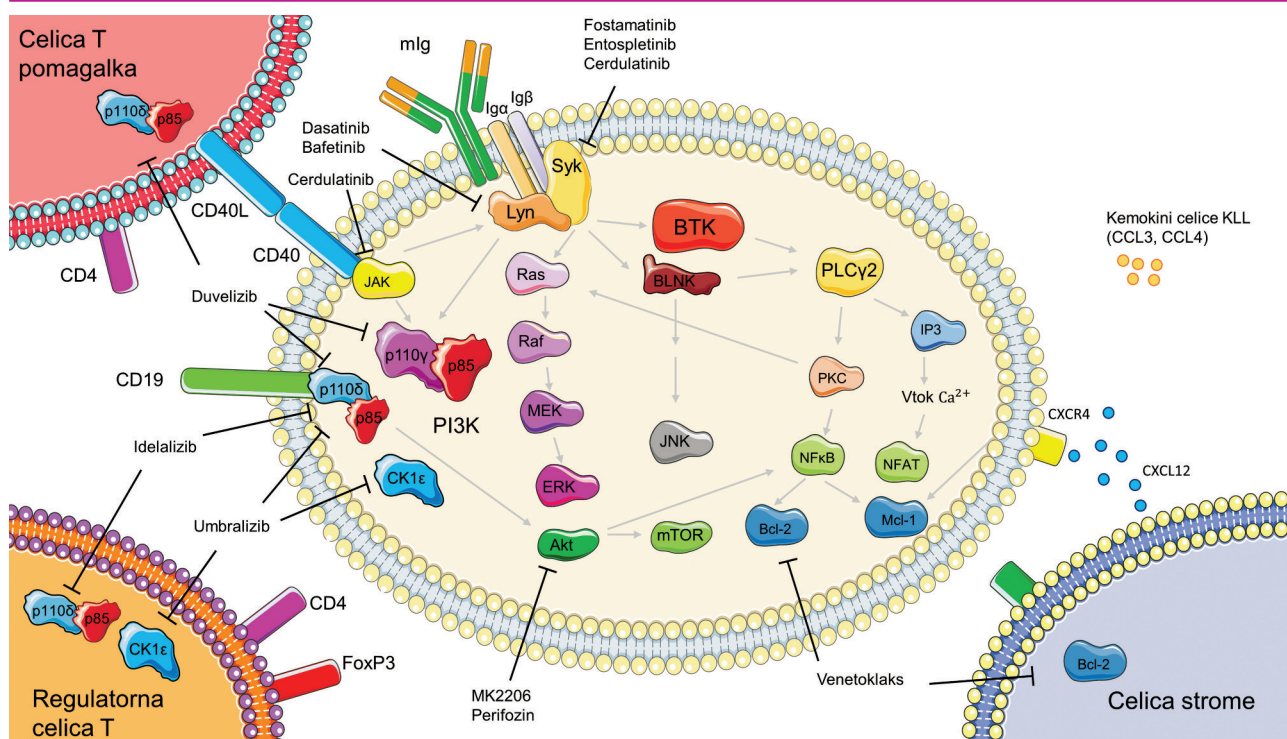
p110 β , p110 δ ali p110 γ) (7). PI3K v receptorski poti BCR lahko aktivirajo nereceptorske tirozin kinaze iz družine Src in Syk (8), receptorske tirozin kinaze in citokinski/kemokinski receptorji (slika 1) (9). PI3K pretvori PIP2 v PIP3, ki aktivira protein kinazo B (Akt). V sosledju dogodkov Akt aktivira mTOR (*mammalian target of rapamycin*), ki uravnava celični metabolizem, migracijo, razmnoževanje, preživetje in diferenciacijo celic. V hematopoetskih celicah, tudi limfocitih B, je pretežno izražena p110 delta izoforma PI3K (PI3K δ) (10). Trenutno sta za zdravljenje KLL odobrena dva zaviralca PI3K, in sicer idelalizib in duvelizib.

2 ZAVIRALCI FOSFATIDILINOZITOL 3-KINAZE

Razred I PI3K sestavlja heterodimer regulatorne podenote (p85 ali p101) in katalitično aktivne podenote (p110 α ,

2.1 IDELALIZIB

Idelalizib (CAL-101) je selektiven, nekovalenten (reverzibilen) zaviralec PI3K δ (preglednica 1). Za zdravljenje KLL so ga odobrili leta 2014, na osnovi kliničnih raziskav III. faze (312-0116, NCT01539512; 312-0119, NCT01659021). Trenutno je s strani EMA odobren v kombinaciji z rituksimabom za zdravljenje v drugi liniji in pri bolnikih z novoodkriti KLL in prisotno del/mut TP53, ki niso primerni za drugo zdravljenje. O klinični učinkovitosti pričajo podatki o stopnji ce-



Slika 1: Zaviralci PI3K, Syk in Lyn delujejo na celice KLL in podporno tumorsko okolje.
Figure 1: Inhibitors of PI3K, Syk, and Lyn act against CLL cells and supportive tumor microenvironment.

lokupnega odziva bolnikov na kombinaciji idelaliziba in rituksimaba (83,6 %) v primerjavi z rituksimabom in placebom (15,5 %). Prav tako je bilo preživetje brez napredovanja pri zdravljenju z idelalizibom in rituksimabom (19,4 mesecev) značilno večje v primerjavi z rituksimabom in placebom (6,5 mesecev). Priporočeno odmerjanje idelaliziba je 150 mg peroralno dvakrat na dan (11).

Poleg proženja apoptoze v primarnih celicah KLL idelalizib zavira tudi podporno tumorsko mikrookolje, ki ga posredujejo okoliške celice strome (10, 12). S tega vidika je zdravljenje z idelalizibom uspešnejše od klasične kemoterapije, ki je v primeru podpornega tumorskega mikrookolja manj učinkovita v pobijanju celic KLL (13, 14).

Kot že omenjeno idelalizib zavira PI3K δ , ki pa ni prisotna le v hematopoetskih celicah limfocitne vrste (10). Iz tega izhajajo številni neželeni učinki. Najbolj se pri zdravljenju z idelalizibom bojimo okužb. Najpogosteje se pojavljajo okužbe dihal in sepse, opisali so primere resnih in smrtnih okužb. Idelaliziba ne smemo uvesti pri bolnikih s kakršnimi koli znaki sistemske bakterijske, glivične ali virusne okužbe (11). Resen neželeni učinek je tudi nevtropenija stopnje 3 ali več, zato je potrebno prvih šest mesecev zdravljenja z idelalizibom spremljati krvno sliko. Pri bolnikih so se pojavljali še hepatotoksičnost, driska, pnevmonitis in kolitis (11, 15). Bolniki zdravljenje z idelalizibom v 50 % prekinejo zaradi neželenih učinkov, približno 30 % nanj postane neodzivnih (16). Ker je idelalizib selektivni zaviralec PI3K δ , je eden od verjetnih mehanizmov odpornosti amplifikacija *PIK3CD* ali povečano izražanje alternativne PI3K zaradi amplifikacije *PIK3CA* oz. *PIK3CB* (17). Danes vemo, da je pri bolnikih s KLL PI3K pogosto povečano aktivna, poleg tega se v 3,5 % pojavljajo aktivirajoče različice v *PIK3CA* (9), ki kodira alternativno PI3K α . Dodatno sta verjetna mehanizma odpornosti amplifikacija onkogene *MYC* (17) in povečano izražanje kemokinskega receptorja CXCR4 (18). Ker PI3K aktivira Akt in nato mTOR, so potencialni vzrok odpornosti tudi aktivirajoče različice v genih, ki kodirajo te signalne poti. V primeru prekinitve zdravljenja z idelalizibom kot posledice izgube terapevtskega učinka zaradi pojava odpornosti je primerno nadaljevati z zdravljenjem z venetoklakksom, ki ne deluje na receptorsko pot celic B (slika 1) (16). Ker v nadaljevanju prehajamo od selektivnih zaviralcev PI3K k dvojnimi zaviralcem, na tem mestu omenjamo še ME-401 (PWT 143), ki ga v I. fazi kliničnega preskušanja vrednotijo samostojno, v kombinaciji z rituksimabom in v kombinaciji z zaviralcem BTK zanubrutinibom za zdravljenje ponovljene/neodzivne KLL (NCT02914938), in AMG-319, ki so ga v I. fazi že ovrednotili za zdravljenje ponovljenih/neodzivnih limfatičnih novotvorb, vključno s KLL (NCT01300026).

2.2 DUVELIZIB

Duvelizib (IPI-145) je novejši peroralno uporaben zaviralec PI3K, ki poleg p110 δ zavira tudi gama (γ) podenoto (preglednica 1). FDA ga je leta 2019 odobrila za zdravljenje odraslih bolnikov s ponovljeno in neodzivno KLL, ki so prestali vsaj dve predhodni zdravljenji (NCT02004522) (19). Duvelizib je od maja 2021 na voljo tudi v EU (6). Ker deluje na p110 δ in p110 γ , ki je poglavitna izoforma PI3K v limfocitih T, duvelizib poleg citotoksičnega delovanja na celice KLL zavre tudi preživetvene signale tumorskega mikrookolja, zaradi česar bi lahko imel ojačano citotoksično delovanje *in vivo* (9).

V poskusih *ex vivo* na izoliranih celicah slovenskih bolnikov s KLL smo pokazali, da duvelizib deluje podobno citotoksično v mikromolarnem območju kot idelalizib, pri čemer je pojavnost neodzivnosti na idelalizib 10-odstotna in se v 75 % kaže tudi v neodzivnosti na duvelizib (20). Na osnovi tega menimo, da kljub temu, da duvelizib zavira tudi podenoto p110 γ , ni primerna alternativa v primeru pojava odpornosti bolnikov na idelalizib.

Duvelizib ima podoben profil neželenih učinkov kot idelalizib. Najpogostejši neželeni učinki stopnje 3 ali več pri bolnikih z zrelemi novotvorbami limfocitov B so bili nevtropenija (30 %), driska ali kolitis (23 %), pljučnica (15 %), anemija (11 %) in trombocitopenija (10 %). V kliničnem preskušanju je 36 % bolnikov s KLL opustilo zdravljenje z duvelizibom, najpogosteje zaradi driske ali kolitisa, okužbe in izpuščaja (19).

2.3 UMBRALIZIB

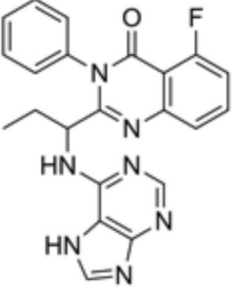
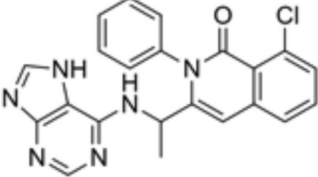
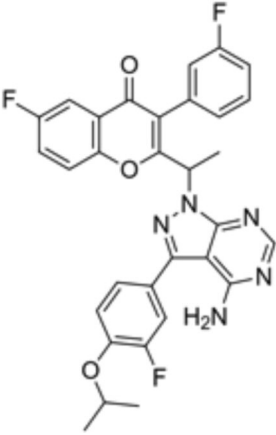
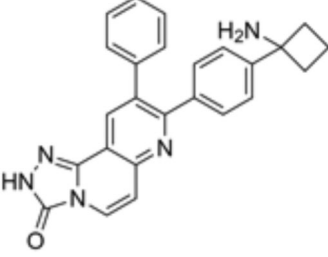
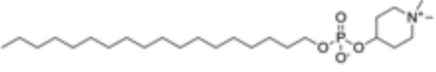
Umbrazilic (TGR-1202) je peroralno uporaben dvojni zaviralec PI3K δ in kazein kinaze I epsilon (CK1 ϵ). V klinični raziskavi III. faze UNITY-CLL (NCT02612311) bodo ovrednotili učinkovitost in varnost umbraliziba v kombinaciji z anti-CD20 protitelesom ublituksimabom v primerjavi z obinututumabom v kombinaciji s klorambucilom na 600 bolnikih s KLL. Bolniki na umbralizibu se odzivajo podobno kot tisti na idelalizibu in duvelizibu, ima pa umbralizib izboljššan varnostni profil z manj neželenimi učinki. Poleg tega edini med omenjenimi zaviralci PI3K poseduje ugoden imunomodulatorni učinek na ohranjanje regulatornih limfocitov T pri KLL (21).

2.4 ZAVIRALCI PROTEIN KINAZE B

Protein kinaza B (Akt) je neposredna tarča PI3K. Aktivaciji Akt sledi aktivacija signalne poti mTOR, ki uravnava preživetje in proliferacijo limfocitov B (slika 1) (9). Selektivni alosterični/ATP-nekompetitivni zaviralec Akt MK2206 v kom-

Preglednica 1: Pregled zaviralcev fosfatidilinozitol 3-kinaze in Akt pri KLL.

Table 1: Overview of PI3K and Akt inhibitors in CLL.

Tarča	Učinkovina	Struktura	Mehanizem delovanja	Faza preskušanja	Številka NCT
PI3Kδ	Idelalizib (CAL-101)		Nekovalenten (reverzibilen) zaviralec PI3K δ	III, odobren 2014	NCT01539512 NCT01659021
PI3Kγ PI3Kδ	Duvelizib (IPI-145)		Nekovalenten (reverzibilen) dvojni zaviralec PI3K γ / δ	III, odobren 2021	NCT02004522 NCT02204982
PI3Kδ CK1ϵ	Umbralizib (TGR-1202)		Nekovalenten (reverzibilen) zaviralec PI3K δ in CK1 ϵ	III	NCT02612311
Akt	MK2206		Alosteričen zaviralec Akt	I/II	NCT01369849
Akt	Perifozin (KRX-0401)		Reverzibilen zaviralec Akt Aktivator MAPK	II	NCT00873457

binaciji z bendamustinom in rituksimabom so v klinični raziskavi faze I/II že ovrednotili za zdravljenje ponovljene KLL (NCT01369849). Podobno so v II. fazi kliničnega preskušanja ovrednotili perifozin (KRX-0401) (NCT00873457), ki so ga bolniki dobro prenašali, vendar so bili klinični odzivi slabi. Dodatno se je izkazalo, da ima perifozin dokaj nejasen mehanizem delovanja, ki je najverjetneje posledica njegove alkilfosfolipidne narave (22).

Čeprav imajo zaviralci mTOR omejen potencial za proženje apoptoze, pa lahko povzročijo zastoj celičnega cikla. S tega vidika je razvoj dvojnih zaviralcev PI3K/mTOR, kjer delujemo citotoksično in citostatično hkrati, smiselno in nakazuje na potencialno klinično uporabnost za zdravljenje KLL (9).

3 ZAVIRALCI TIROZIN KINAZ SYK IN LYN

V receptorski poti limfocitov B imata osrednjo vlogo vranična tirozin kinaza (Syk) in tirozin kinaza Lyn, ki vršita fosforilacijo ITAM po aktivaciji BCR. Prav tako aktivirata BTK in PI3K, farmakološko zaviranje njune aktivnosti pa vodi v zavoro receptorske poti celic B (8, 9, 23–25) in okrnitev preko kemokinov in integrinov posredovanih citoprotektivnih učinkov tumorskega mikrookolja pri KLL (26).

3.1 FOSTAMATINIB

Fostamatinib (R788) je peroralno uporabno predzdravilo (preglednica 2). *In vivo* z odcepom metilenfosfatne skupine nastane aktivni metabolit tamatinib (R406), ki je relativno selektiven reverzibilni zaviralec Syk. Njegovo terapevtsko uporabnost pri B-celičnih ne-Hodgkinovih limfomih so ovrednotili v fazi I/II kliničnega preskušanja (NCT00446095). Pri tem so bolniki s KLL, ki so prejeli 200 mg dvakrat dnevno, izkazovali najvišje odzive (55-odstotni) med B-celičnimi ne-Hodgkinovimi limfomi. Pogosti neželeni učinki so bili driska, utrujenost, citopenije, hipertenzija in slabost (27).

3.2 ENTOSPLETINIB

V iskanju selektivnejših zaviralcev Syk so razvili entospletinib (GS-9973). V II. fazi kliničnega preskušanja so bolniki s ponovljeno/neodzivno KLL ali ne-Hodgkinovim limfomom prejeli entospletinib v odmerku 800 mg dvakrat dnevno (NCT01799889). Stopnja celokupnega odziva je bila 61-odstotna, mediana preživetja brez napredovanja bolezni pa

13,8 mesecev. 29 % bolnikov je imelo resne neželene učinke, med njimi sta bila najpogostejša neželena učinka stopnje 3 ali več nevtropenija (14,5 %) in povečane vrednosti aminotransferaz (13,4 %) (28). Celokupno je raziskava pokazala, da je entospletinib učinkovit in ima sprejemljiv varnostni profil za zdravljenje ponovljene/neodzivne KLL. Entospletinib preskušajo tudi v kombinaciji z ostalimi tarčnimi zdravili, npr. z idelalizibom (NCT01796470) in v kombinaciji s tirabrutinibom (z ali brez obinutuzumaba) (NCT02983617).

3.3 CERDULATINIB

Cerdulatinib (PRT062070) je dvojni zaviralec Syk in JAK1/3 (preglednica 2). V poskusih *in vitro* na primarnih celicah KLL so pokazali, da deluje citotoksično samostojno in v kombinaciji z venetoklaxsom. Obenem se je izkazal za učinkovitega pri zaviranju receptorske poti celic B v na ibrutinib odpornih celicah KLL (26). Trenutno poteka raziskava faze I/II (NCT01994382).

3.4 DASATINIB

Dasatinib (BMS-354825) je reverzibilen in peroralno uporaben zaviralec BCR/ABL1 (IC_{50} 1–10 nM) in kinaz iz družine Src, predvsem Lyn (IC_{50} 11 nM) (29). Odobren je za zdravljenje malignih bolezni s fuzijskim genom *BCR/ABL1* (kronična mieloična levkemija in akutna limfoblastna levkemija). V II. fazi klinične raziskave (NCT00438854) so ga ovrednotili za zdravljenje ponovljene/neodzivne KLL. Z dasatinibom lahko onemogočimo vpliv tumorskega mikrookolja na preživetje celic KLL in s tem okrepimo delovanje zdravil, pri katerih tumorsko mikrookolje oslabi citotoksično delovanje na celice KLL. Klinično dasatinib že vrednotijo v kombinaciji z bendamustinom (NCT00872976), lenalidomidom (NCT00829647), rituksimabom (NCT00949988) ter fludarabinom in rituksimabom (NCT01173679).

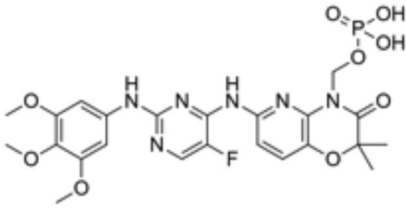
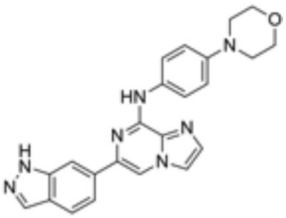
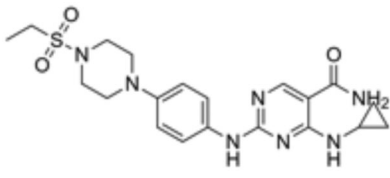
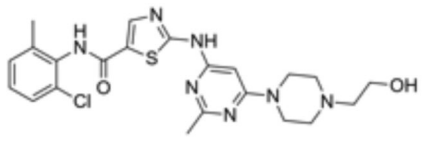
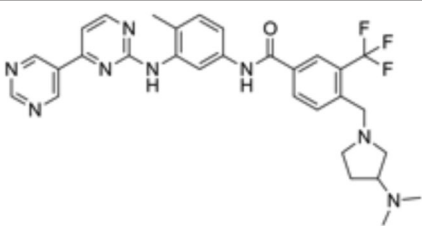
3.5 BAFETINIB

Bafetinib (INNO-406) je peroralno uporaben zaviralec Lyn (preglednica 2). Poleg Lyn zavira tudi BCR/ABL1. V II. fazi kliničnega preskušanja so ga ovrednotili za zdravljenje ponovljene/neodzivne KLL (NCT01144260). Bolniki so prejeli 240 mg bafetiniba dvakrat dnevno. V obliki monoterapije pri tem odmerku ni izkazoval učinkovitosti, v primerjavi z dasatinibom pa ima izboljššan profil neželenih učinkov. V prihodnje ga nameravajo kombinirati z monoklonskimi protitelesi in kemoterapijo (30).



Preglednica 2: Pregled zaviralcev tirozin kinaz Syk in Lyn pri KLL.

Table 2: Overview of Syk in Lyn tyrosine kinase inhibitors in CLL.

Tarča	Učinkovina	Struktura	Mehanizem delovanja	Faza preskušanja	Številka NCT
Syk	Fostamatinib (R788)		Predzdravilo Aktivni metabolit tamatinib je ATP-kompetitiven zaviralec Syk	I/II	NCT00446095
Syk	Entospletinib (GS-9973)		Reverzibilen ATP-kompetitiven zaviralec Syk	II	NCT01799889 NCT01796470 NCT02983617
Syk in JAK1/3	Cerdulatinib (PRT062070)		Dvojni reverzibilen ATP-kompetitiven zaviralec Syk in JAK1/3	I/II	NCT01994382
BCR/ABL in Lyn	Dasatinib (BMS-354825)		Dvojni ATP-kompetitiven zaviralec Lyn in BCR/ABL1	II	NCT00438854 NCT00872976 NCT00829647 NCT00949988 NCT01173679
BCR/ABL in Lyn	Bafetinib (INNO-406)		Dvojni ATP-kompetitiven zaviralec Lyn in BCR/ABL1	II	NCT01144260

4 ZAKLJUČEK

Danes o kemoterapiji KLL praktično ne govorimo več, sočasno se poslavljamo od standardnega zdravljenja KLL v obliki kemoimunoterapije. Izrazit napredek v razumevanju preživetvenih mehanizmov celic KLL je v zadnjem desetletju bolnikom ponudil pet tarčnih zdravil, po dva iz skupine zaviralcev

BTK (ibrutinib, akalabrutinib) in PI3K (idelalizib, duvelizib) in enega antagonista Bcl-2 (venetoklaks). V kliničnih raziskavah je pravi arzenal novih citotoksičnih tarčnih molekul. Poleg novih selektivnih zaviralcev BTK, PI3K in antagonistov antiapoptotičnih proteinov preučujemo PROTACe, zaviralce signalnih poti Akt/mTOR, Syk, Lyn, v razvoju so monoklonska protitelesa proti različnim celičnim označevalcem pri KLL, zaviralci histonske deacetilaze in od ciklina odvisnih kinaz. Omeniti moramo tudi serijo različnih kombinacij tarčnih zdravil in napredno zdravljenje s celicami CAR-T.

Obetavni rezultati kliničnih preskušanj in vpeljava majhnih tarčnih molekul v klinično prakso nam morda dajejo lažen občutek, da bolezen obvladujemo, vendar KLL v veliki meri še vedno ostaja neozdravljiva bolezen. Dodatno pereč problem predstavljajo pojav odpornosti, ki je pogosto ne moremo predvideti, in številni neželeni učinki, ki negativno vplivajo na učinkovitost zdravljenja in kakovost življenja bolnikov s KLL. Ne glede na to so najnovejša tarčna zdravila neprimerno učinkovitejša od klasične kemoimunoterapije in so jih deležni tudi bolniki v Sloveniji. Zaključimo lahko, da majhne tarčne molekule utrjujejo svoj trenutni položaj pri obvladovanju KLL, zagotovo pa imajo svetlo prihodnost tudi pri boju z drugimi vrstami levkemij.

5 IZJAVA O RAZKRITJU INTERESOV

Prvi in vodilni avtor nimata navzkrižja interesov. Eden izmed avtorjev je v zadnjih dveh letih prejel honorarje za opravljena izobraževanja in sodelovanje v posvetovalnih telesih s strani podjetij AbbVie, Janssen, Roche in AstraZeneca. Eden izmed avtorjev je prejel honorar za predavanja in svetovanje s strani podjetij AbbVie in Janssen.

6 LITERATURA

- Hallek M, Shanafelt TD, Eichhorst B. Chronic lymphocytic leukaemia. *The Lancet*. 2018;391(10129):1524–37.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: A report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008;111(12):5446–56.
- Burger JA, O'Brien S. Evolution of CLL treatment — from chemoimmunotherapy to targeted and individualized therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(8):510–27.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745–60.
- Avsec D, Podgornik H, Mlinarič-Raščan I. Tarčno zdravljenje kronične limfocitne levkemije z antagonisti antiapoptotičnih proteinov = Antagonists of antiapoptotic proteins in the targeted therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Farm Vestn*. 2022;73(1):31–9.
- Copiktra; INN-duvelisib. Dostopno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/copiktra-epar-medicine-overview_en.pdf. Poskus dostopa: 2.6.2021.
- Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2009 Aug;8(8):627–44.
- Srinivasan L, Sasaki Y, Calado DP, Zhang B, Paik JH, DePinho RA, et al. PI3 kinase signals BCR-dependent mature B cell survival. *Cell*. 2009 Oct 30;139(3):573–86.
- Davids MS, Brown JR. Phosphoinositide 3'-Kinase Inhibition in Chronic Lymphocytic Leukemia. Vol. 27, *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2013. p. 329–39.
- Brown JR, Byrd JC, Coutre SE, Benson DM, Flinn IW, Wagner-Johnston ND, et al. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110 δ , for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014 May;123(22):3390–7.
- Zydelig, INN-idelalisib. Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Dostopno na: http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20171116139021/anx_139021_sl.pdf. Poskus dostopa: 8.9.2020.
- Shen Y, Best OG, Mulligan SP, Christopherson RI. Ibrutinib and idelalisib block immunophenotypic changes associated with the adhesion and activation of CLL cells in the tumor microenvironment. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(8):1927–37.
- Ikeda H, Hideshima T, Fulciniti M, Perrone G, Miura N, Yasui H, et al. PI3K/p110[delta] is a novel therapeutic target in multiple myeloma. *Blood*. 2010/05/26 ed. 2010 Sep 2;116(9):1460–8.
- Kurtova A V., Balakrishnan K, Chen R, Ding W, Schnabl S, Quiroga MP, et al. Diverse marrow stromal cells protect CLL cells from spontaneous and drug-induced apoptosis: Development of a reliable and reproducible system to assess stromal cell adhesion-mediated drug resistance. *Blood*. 2009;114(20):4441–50.
- Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94(11):1266–87.
- Bosch F, Hallek M. Venetoclax after idelalisib: relevant progress for CLL. *Blood*. 2018 Apr 12;131(15):1632–3.
- Woyach JA, Johnson AJ. Targeted therapies in CLL: Mechanisms of resistance and strategies for management. *Blood*. 2015;126(4):471–7.
- Kim JH, Kim WS, Ryu KJ, Kim SJ, Park C. CXCR4 can induce PI3K δ inhibitor resistance in ABC DLBCL. Vol. 8, *Blood Cancer Journal*. 2018.
- COPIKTRA (duvelisib). Full prescribing information. Dostopno na: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/21155s000lbl.pdf. Poskus dostopa: 8.9.2020.
- Burnik T. Sinergistično delovanje zaviralcev proteasoma in imunoproteasoma z zaviralci receptorske poti limfocitov B na celicah kronične limfocitne levkemije [magistrska naloga]. Ljubljana: T. Burnik; 2022.
- Maharaj K, Powers JJ, Achille A, Mediavilla-Varela M, Gamal W, Burger KL, et al. The dual PI3K δ /CK1 ϵ inhibitor umbralisib exhibits unique immunomodulatory effects on CLL T cells. *Blood Adv*. 2020 Jul 7;4(13):3072–84.
- Friedman DR, Lanasa MC, Davis PH, Allgood SD, Matta KM, Brander DM, et al. Perifosine treatment in chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II clinical trial and in vitro studies. *Leuk Lymphoma*. 2014 May;55(5):1067–75.
- Rawlings DJ, Scharenberg AM, Park H, Wahl MI, Lin S, Kato RM, et al. Activation of BTK by a phosphorylation mechanism



- initiated by SRC family kinases. *Science*. 1996 Feb;271(5250):822–5.
24. Wang LD, Clark MR. B-cell antigen-receptor signalling in lymphocyte development. *Immunology*. 2003 Dec;110(4):411–20.
25. Smith CIE. From identification of the BTK kinase to effective management of leukemia. *Oncogene*. 2016/09/26 ed. 2017 Apr;36(15):2045–53.
26. Liu D, Mamorska-Dyga A. Syk inhibitors in clinical development for hematological malignancies. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):145.
27. Friedberg JW, Sharman J, Sweetenham J, Johnston PB, Vose JM, Lacasce A, et al. Inhibition of Syk with fostamatinib disodium has significant clinical activity in non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2010 Apr;115(13):2578–85.
28. Sharman J, Hawkins M, Kolibaba K, Boxer M, Klein L, Wu M, et al. An open-label phase 2 trial of entospletinib (GS-9973), a selective spleen tyrosine kinase inhibitor, in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2015 Apr;125(15):2336–43.
29. Amrein PC, Attar EC, Takvorian T, Hochberg EP, Ballen KK, Leahy KM, et al. Phase II study of dasatinib in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2011 May;17(9):2977–86.
30. Kadia T, Delioukina ML, Kantarjian HM, Keating MJ, Wierda WG, Burger JA, et al. A Pilot Phase II Study of the Lyn Kinase Inhibitor Bafetinib in Patients with Relapsed or Refractory B Cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*. 2011 Nov 18;118(21):2858.

NOVICE IZ SVETA FARMACIJE

DEPO INJEKCIJA NA OSNOVI LIOTROPNIH TEKOČIH KRISTALOV ZA SUBKUTANO DOSTAVO ZDRAVILNIH UČINKOVIN

asist. Mercedes Vitek, mag. farm.
doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm.

Sodobni dostavni sistemi za subkutano aplikacijo, ki omogočajo podaljšano sproščanje zdravilnih učinkovin v krvni obtok in s tem manj pogosto odmerjanje, vedno bolj pridobivajo na pomenu, predvsem v terapiji kroničnih bolezni. Liotropni tekoči kristali predstavljajo enega izmed atraktivnih dostavnih sistemov za ta namen. Gre za napredne dostavne sisteme, ki nastanejo *in situ* po injiciranju zmesi izbranih lipidov in površinsko aktivnih snovi v podkožje, pri čemer se ob stiku z zunajcelično tekočino tvori gel z mikrostrukuro tekočih kristalov. V Evropski uniji so leta 2018 registrirali prvo subkutano depo injekcijo na osnovi liotropnih tekočih kristalov (Fluidcrystal®), ki omogoča tedensko ali mesečno aplikacijo buprenorfina za zdravljenje opioidne odvisnosti. V kliničnih raziskavah so trenutno tudi formulacije, ki temeljijo na isti tehnologiji in so namenjene subkutani dostavi različnih terapevtskih oligopeptidov, kot so levprolid za zdravljenje raka prostate, setmelanotid za zdravljenje gensko pogojene debelosti in oktreatid za zdravljenje akromegalije in nekaterih vrst tumorjev.

Vir:

1. Nkanga CI, et al. Clinically established biodegradable long acting injectables: An industry perspective. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020 Nov;167:19-46.

KEMIJSKA KARAKTERIZACIJA IN OCENA BIOAKTIVNOSTI ETERIČNEGA OLJA IN HIDROLATA TIMIJANA (*T. mastichina*) IN BRŠKINA (*Cistus ladanifer*)

asist. dr. Petra Ratajc, univ. dipl. biol.

Eterična olja so zaradi protimikrobnega, protivnetnega in antiproliferativnega delovanja ter vpliva na celjenje ran zanimiva za uporabo v pripravkih za izboljšanje videza kože in lajšanja nekaterih kožnih težav. Portugalski raziskovalci so kemijsko ovrednotili eterični olji in hidrolata dveh avtohtonih rastlin, in sicer vrsto timijana (*Thymus mastichina* L.) in brškin (*Cistus ladanifer* L.), in ocenili njihovo bioaktivnost *in vitro*. Rastlini tradicionalno uporabljamo pri aknah, za celjenje ran in razjed, pri ekcemu in luskavici. Glavni sestavini eteričnega olja timijana sta bila 1,8-cineol (43,5 %) in *p*-cimen (16,8 %), v eteričnem olju brškin pa sta prevladovala alfa-pinen (50 %) in kamfen (10,1 %). Brškin se je izkazal s protivnetnim potencialom eteričnega olja tudi pri najmanjši preizkušani koncentraciji (0,002 %, V/V) in z znatnim spodbujanjem celične migracije, ki je bila primerljiva z delovanjem alantoina (pozitivna kontrola). Podobne rezultate je izzval tudi njegov hidrolat. Eterični olji obeh vrst sta izražali učinkovito protimikrobno delovanje, eterično olje brškin pa je presenetilo tudi s sposobnostjo zaviranja nastajanja biofilma *Cutibacterium acnes*. Rezultati raziskave potrjujejo tradicionalni uporabi pripravkov obeh rastlin na koži, pozitivni rezultati pa so spodbudni tudi za vse, ki eterično olje brškin vgrajujejo v svoje kozmetične izdelke.

Vir:

1. Oliveira AS, et al. *Thymus mastichina* (L.) L. and *Cistus ladanifer* L. for skin application: Chemical characterization and *in vitro* bioactivity assessment. *J Ethnopharmacol.* 2023 Feb 10;302(Pt A):115830.



TRANSDERMALNI OBLIŽI NA OSNOVI NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH NOSILCEV ZA ZDRAVLJENJE NEVROPATSKE BOLEČINE

asist. Mercedes Vitek, mag. farm.

doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm.

Po izpostavljenosti kapsaicinu postanejo kožni nociceptorji manj občutljivi za številne dražljaje, zato ga uporabljamo kot zdravilno učinkovino za zdravljenje periferne nevropatske bolečine pri odraslih osebah. Pogosto pa se pri aplikaciji na koži pojavijo lokalni neželeni učinki, kot so eritem, edem in pruritus. Arunprasert in sod. so razvili transdermalne obliže na osnovi nanostrukturiranih lipidnih nosilcev z vgrajenim kapsaicinom, ki so izkazali pomembne prednosti v primerjavi s konvencionalnimi obliži s kapsaicinom. Rezultati raziskave so namreč pokazali, da nanostrukturirani lipidni nosilci omogočajo počasnejše sproščanje učinkovine ob sočasni izboljšani penetraciji učinkovine na mesto delovanja v globlje plasti kože. Z raziskavo *in vivo* so raziskovalci nadalje tudi dokazali, da razviti transdermalni obliži izkazujejo manj neželenih učinkov, saj je bil izmerjeni eritemski indeks pomembno znižan v primerjavi s konvencionalnimi obliži.

Vir:

1. Arunprasert K, et al. Nanostructured lipid carrier-embedded polyacrylic acid transdermal patches for improved transdermal delivery of capsaicin. *Eur J Pharm Sci.* 2022 Mar;173:106169.

NAPOVEDNIK DOGODKOV SFD

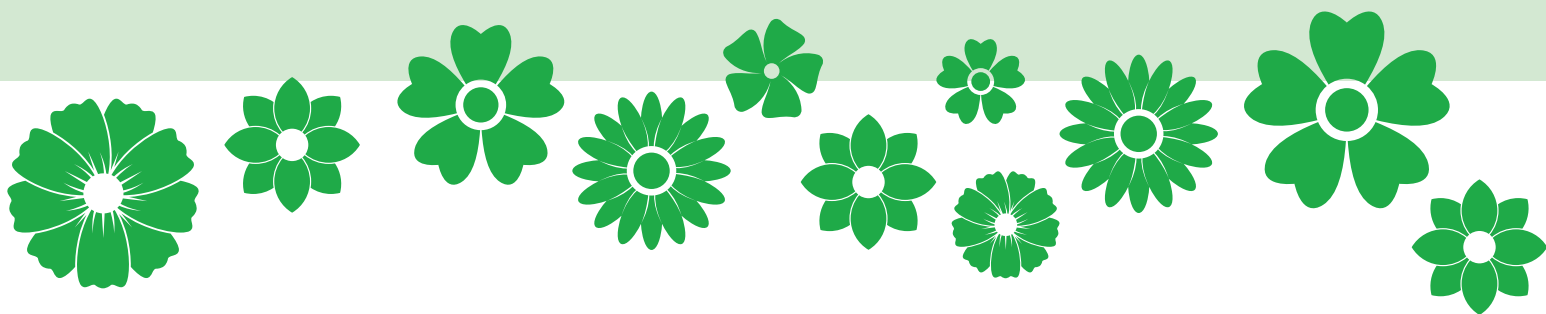
Tradicionalni simpozij SFD

Portorož, 11. do 13. maj 2023

OSREDNJI TEMI

Izbrane novosti na področju farmacije

Celostna obravnava depresije



Tradicionalni simpozij Sekcije farmacevtskih tehnikov

Rogla, 26. in 27. maj 2023

OSREDNJA TEMA

Samozdravljenje bolečine v mišicah in sklepih



MINERALI, VITAMINI in druge izbrane snovi

K^+

Zn^{2+}

Fe^{2+}

Mg^{2+}

Ca^{2+}

Uredniki
Lucija Peterlin Mašič,
Aleš Obreza,
Tomaž Vovk



Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veletrgovnica za prodajo zdravil z najširšo ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikujejo nas hitrost, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravstvene in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost ponuja nešteto izzivov. Premagamo jih lahko z nenehnim izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko izbiro zdravil ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev opravičevali tudi v prihodnje!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si

