



Rycina 39. Karpobrot jadalny (*Carpobrotus edulis*).
Fot. Tomasz Wilk

ROZDZIAŁ 5.

PRZEGLĄD WŁAŚCIWOŚCI NATURALNYCH ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH ZAPEWNIAJĄCYCH PODWYŻSZENIE OCHRONY SKÓRY PRZED PROMIENIOWANIEM UV

Artur Budzowski¹, Regina Gil²

¹ Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Zakład Chemii Kosmetycznej. ORCID: 0000-0002-2714-0877

² Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Zakład Chemii Kosmetycznej. ORCID: 0000-0002-7315-6159

DOI: 10.48269/978-83-66007-99-4-005

Streszczenie

Różnorodne ekstrakty roślinne i zawarte w nich związki polifenolowe mogą być wykorzystane jako naturalne surowce promieniochronne, stosowane w celu wzmocnienia efektu działania fizycznych i chemicznych filtrów UV wchodzących w skład kosmetyków. Naturalne ekstrakty roślinne, ze względu na niski SPF, samodzielnie nie zapewniają wystarczającej ochrony przed promieniowaniem UV-B, a zwłaszcza UV-A. Dlatego większość kosmetyków promieniochronnych zawiera kombinacje filtrów chemicznych z naturalnymi ekstraktami roślinnymi, które poprzez synergiczne działanie zapewniają efektywną ochronę przed promieniowaniem UV.

W rozdziale przytoczone zostały wyniki wieloaspektowych badań mających na celu wyjaśnienie korzystnych właściwości wybranych związków polifenolowych, prowadzących do podwyższenia ochrony skóry przed promieniowaniem UV. Porównane zostały wyniki badań *in vivo* z udziałem pacjentów lub zwierząt laboratoryjnych z badaniami *in vitro* obejmującymi hodowle komórkowe, pomiary fizyczne oraz analizy chemiczne. Sklasyfikowano główne kierunki działania promieniochronnego polifenoli, do których należą: absorpcja promieniowania UV, działanie antyoksydacyjne poprzez dezaktywację wolnych rodników, a także dwa kierunki działania biologicznego – przeciwzapalne oraz immunomodulacyjne. Efekt wymienionych działań objawia się w postaci dobroczynnych skutków podwyższania ochrony przed szkodliwym działaniem ultrafioletu.

Słowa kluczowe: polifenole; flawonoidy; filtry UV; surowce promieniochronne; przeciwutleniacze

Abstract

Review of the properties of natural polyphenolic compounds ensuring increased protection of the skin against UV radiation

Various plant extracts and polyphenolic compounds contained in them can be used as natural sunscreens, used to enhance the effect of physical and chemical UV filters included in cosmetics. Due to the low SPF, natural plant extracts alone do not provide sufficient protection against UV-B and especially UV-A rays. That is why most sunscreens contain combinations of chemical filters with natural plant extracts, which, through synergistic action, provide effective protection against UV rays.

The chapter presents the results of multifaceted research aimed at explaining the beneficial properties of selected polyphenolic compounds, leading to increased protection of the skin against UV rays. The results of *in vivo* studies in patients or laboratory animals were compared with *in vitro* studies involving cell cultures, physical measurements and chemical analyzes. The main directions of polyphenols' radiation protection have been classified, including: absorption of UV radiation, antioxidant activity by deactivating free radicals, as well as two directions of biological activity – anti-inflammatory and immunomodulatory. The effect of these activities manifests itself in the form of beneficial effects of increasing the protection against the harmful effects of ultraviolet.

Key words: polyphenols; flavonoids; UV filters; sunscreens; antioxidants

Wprowadzenie

Każdy z nas, niezależnie od wieku, marzy o zdrowo wyglądającej skórze, wolnej od zmarszczek i przebarwień. Niestety nadmierna ekspozycja na promieniowanie słoneczne jest główną przyczyną naruszenia naturalnej bariery ochronnej skóry, przyspiesza procesy starzenia się, pogłębia zmarszczki oraz zwiększa ryzyko zachorowania na nowotwory, w tym czerniaka [Pacholczyk i wsp. 2016].

Słońce emituje promieniowanie ultrafioletowe o różnej długości fali, na które składa się promieniowanie UV-A (320–400 nm), UV-B (280–320 nm) oraz UV-C (200–280 nm). Promieniowanie UV-B w około 90 procentach jest zatrzymywane przez naskórek i tylko niewielka jego część, około 10%, dociera do skóry właściwej. Reakcje skórne wywołane działaniem promieniowania UV-B są natychmiastowe i mają charakter oksydacyjny, ponieważ są efektem działania reaktywnych form tlenu (RFT), które przyczyniają się do uszkodzenia błon komórkowych, wywołują stany zapalne skóry oraz rozszerzają naczynia włosowate

powodując obrzęk i rumień. Ponadto, w odpowiedzi na przewlekłe działanie promieniowania UV-B, fibroblasty skórne wytwarzają enzymy zwane metaloproteinazami (MMP-1, MMP-2 i MMP-9), które zaangażowane są w degradację kolagenu typu 1. Promieniowanie o długości fali 320–400 nm przenika aż do skóry właściwej i tkanki podskórnej, dlatego odpowiada za reakcje fotoalergiczne i fototoksyczne. Z kolei w wyniku reakcji opóźnionych będących wynikiem działania promieniowania UV-A niszczone są białka obecne w skórze, m.in. elastyna i kolagen. Dodatkowo promieniowanie UV-A wykazuje działanie genotoksyczne z udziałem wolnych rodników o działaniu utleniającym, które powodują uszkodzenia oksydacyjne reagując z białkami, lipidami i DNA. Poza fotostarzeniem się skóry, promieniowanie UV powoduje także obniżenie jej funkcji immunologicznych, czyli tzw. immunosupresję oraz kancerogenezę, która prowadzi do nowotworów [Resich-Kozieł i Niemyska 2020, Brennerr i Hearing 2008, Agar i wsp. 2004].

Skutki biologicznego oddziaływania promieniowania UV na skórę mogą ujawnić się bezpośrednio po ekspozycji na słońce albo dopiero po wielu latach. Nie ulega więc wątpliwości, jak ważna jest ochrona skóry przed promieniowaniem UV poprzez miejscowe zastosowanie preparatów kosmetycznych o właściwościach fotoprotekcyjnych. W celu zapewnienia pełnego spektrum ochrony przeciwsłonecznej w preparatach tych stosowane są fizyczne i chemiczne filtry UV, wybrane spośród substancji promieniochronnych dopuszczonych do stosowania w systemie prawnym danego kraju. Biorąc pod uwagę budowę chemiczną oraz mechanizm działania, filtry ochronne zostały podzielone na dwie grupy: filtry fizyczne, określane również jako filtry mineralne, oraz filtry chemiczne, zwane także filtrami organicznymi. Aktywność filtrów mineralnych polega na odbijaniu i rozpraszaniu promieni słonecznych. Do tej grupy zaliczane są surowce nieorganiczne, takie jak: tlenek cynku (INCI: *Zinc Oxide*) oraz dwutlenek tytanu (INCI: *Titanium Dioxide*). Natomiast filtry chemiczne wykazują zdolność do absorpcji promieniowania UV. Są to syntetyczne związki organiczne pochłaniające promieniowanie w określonym zakresie długości fali. W zależności od zakresu długości fali pochłanianego światła można je podzielić na filtry absorbujące w zakresie UV-B (pochodne kwasu *p*-metoksycynamonowego, kwasu salicylowego i PABA – kwasu *p*-aminobenzoowego, np. INCI:

Ethylhexyl Triazone), filtry mające szeroki zakres absorpcji obejmujący zarówno promieniowanie UV-A, jak i UV-B: *Bemotrizinol* (INCI: *Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine*), *Bisotrizole* (INCI: *Methylene bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol*), pochodna benzotriazolu (*Drometrizole Trisiloxane*) oraz filtry absorbujące głównie promieniowanie UV-A, np. *Benzophenone-3* czy pochodna benzotriazolu *Terephthallylidene Dicamphor Sulfonic Acid* [Budzowski i Gil 2018]. Dlatego w recepturze preparatów promieniochronnych często stosuje się kombinacje filtrów fizycznych i chemicznych, jak również dobiera się filtry pod względem zakresu absorpcji tak, aby zapewniały ochronę zarówno w zakresie UV-A, jak i UV-B.

Niestety, syntetyczne filtry chemiczne posiadają często niewystarczającą fotostabilność, przez co po upływie pewnego czasu od nanieśnięcia preparatu na skórę może następować uszkodzenie chromoforu, co prowadzi do spadku lub wręcz utraty jego właściwości ochronnych. Dodatkowo efektem niepożądanym wielu filtrów UV aplikowanych miejscowo jest ich przenikanie przez skórę oraz działanie alergizujące i fotouczulające. Mając na uwadze bezpieczeństwo konsumenta, we współczesnej recepturze preparatów promieniochronnych obok fizycznych i chemicznych filtrów UV dodatkowo wprowadza się substancje pochodzenia naturalnego, najczęściej w formie ekstraktów roślinnych, które oprócz właściwości antyoksydacyjnych i przeciwzapalnych wykazują także działanie absorbujące promieniowanie UV. Co więcej, ich obecność w preparatach promieniochronnych wykazuje działanie synergiczne względem fizycznych i chemicznych filtrów UV oraz łagodzi skutki negatywnego działania promieni słonecznych. Takie rozwiązanie zwiększa bezpieczeństwo stosowania preparatów anty UV nie tylko przez ograniczenie ilościowe szkodliwych filtrów chemicznych w recepturze kosmetycznej, ale przede wszystkim przez zapewnienie szerokiego spektrum działania fotoprotekcyjnego.

W rozdziale przytoczone zostały wyniki badań mających na celu wyjaśnienie działania promieniochronnego wybranych związków polifenolowych.

Współczynnik ochrony przeciwsłonecznej – SPF

W celu wyrażenia efektywności ochrony produktu kosmetycznego przed promieniowaniem UV-B stosuje się współczynnik ochrony przeciwsłonecznej (SPF, ang. *sun protection factor*), który uznawany jest za uniwersalny wskaźnik służący do opisu skuteczności produktów przeciwsłonecznych w ochronie skóry przed oparzeniami słonecznymi. Współczynnik ten został zdefiniowany jako stosunek minimalnej dawki promieniowania powodującej rumień na skórze chronionej środkiem promieniochronnym w ilości 2 mg/cm^2 do minimalnej dawki promieniowania powodującej rumień na skórze nie chronionej filtrem UV. Im wyższe stężenie filtru w danym kosmetyku, tym wyższa ochrona i wartość SPF. Preparaty fotoprotekcyjne są klasyfikowane zgodnie z ich wartościami SPF, przy czym wartości od 6 do 10 są klasyfikowane jako „minimalna ochrona przeciwsłoneczna”, od 15 do 25 to „umiarkowana ochrona przeciwsłoneczna”, a produkty przeciwsłoneczne o wartościach SPF 30 i wyższych są zdefiniowane jako „wysoka ochrona przed słońcem”. Najwyższą ochronę zapewniają produkty kosmetyczne oznaczone jako SPF 50+, co w praktyce oznacza wartości SPF > 60.

SPF można oznaczać metodą bezpośrednią *in vivo*, podając badany preparat na skórę wybranej grupy ochotników i mierząc dawkę promieniowania wywołującą rumień, która następnie jest porównywana z grupą kontrolną. W przypadku badań nad zastosowaniem ekstraktów roślinnych do celów kosmetycznych powszechnie stosowana jest przybliżona metoda *in vitro* spektrofotometrycznego oszacowania SPF, na podstawie pomiaru absorbancji w zakresie długości fali 290–320 nm. Wartość liczbowa SPF oblicza się zgodnie z równaniem opracowanym przez Mansura i wsp. [1986], na podstawie sumy przyczynków będących iloczynami absorbancji badanego ekstraktu roślinnego mierzonej co 5 nm w zakresie 290–320 nm, pomnożonymi przez stałą wartość będącą iloczynem natężenia światła symulatora słonecznego $I(\lambda)$ oraz wielkości $EE(\lambda)$ opisującej efektywność wywoływania rumienia dla danej długości fali (ang. *erythemogenic effect*). Standardowe wartości iloczynów $I(\lambda)$ i $EE(\lambda)$ dla światła słonecznego w zakresie 290–320 nm zostały wyznaczone eksperymentalnie i były kilkakrotnie doprecyzowywane przez różnych autorów [Webb i wsp. 2011].

$$SPF = CF \times \sum EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

gdzie:

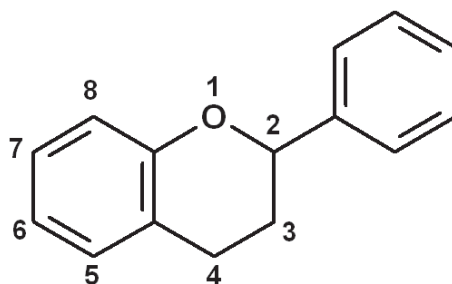
- $EE(\lambda)$ – efektywność wywoływania rumienia dla danej długości fali;
- $I(\lambda)$ – natężenie światła słonecznego;
- $Abs(\lambda)$ – wynik pomiaru absorbancji dla kosmetyku promieniochronnego;
- CF – współczynnik korygujący (=10);
- $EE \times I$ – wartości stałe.

Charakterystyka polifenoli o działaniu promieniochronnym

Związki aktywne pochodzenia roślinnego są obecnie powszechnie stosowane w recepturze preparatów kosmetycznych. Lecznicze i kosmetyczne właściwości ekstraktów roślinnych znane były już w starożytności, a dynamiczny rozwój przemysłu kosmetyczno-farmaceutycznego pozwolił na zastosowanie tych ekstraktów także w fitofarmacji.

Dużą rolę w kosmologii przypisuje się polifenolom – związkom organicznym zawierającym co najmniej dwie grupy hydroksylowe ($-OH$) przyłączone do pierścienia aromatycznego. Są to metabolity wtórne roślin, które powstają na drodze dwóch szlaków metabolicznych: kwasu szikimowego i kwasu malonowego. Prekursorem obu szlaków jest acetylo-CoA [Dudka i wsp. 2016]. Polifenole magazynowane są w różnych częściach roślin, np. w owocach, kwiatach, liściach i korzeniach. Nadają im barwę oraz stanowią ochronę przed różnymi drobnoustrojami chorobotwórczymi i promieniowaniem UV [Kosiorek i wsp. 2013]. Pełnią także funkcję regulatorów wzrostu i hormonów [Cook i Samman 1996].

Pod względem budowy chemicznej polifenole należą do grupy związków organicznych charakteryzujących się obecnością w cząsteczce jednego lub kilku pierścieni aromatycznych oraz różną liczbą grup hydroksylowych, które warunkują ich działanie antyoksydacyjne. Aktywność ta rośnie wraz ze wzrostem liczby grup hydroksylowych w cząsteczce. Do roślinnych związków polifenolowych należą: kwasy fenolowe, flawonoidy, antocyjany, stilbeny oraz lignany [Kosiorek i wsp. 2013]. Dużą różnorodnością chemiczną charakteryzują się flawonoidy, których budowa oparta jest na szkielecie flawanu (rycina 40).



Rycina 40. Struktura flawanu

Podstawowym elementem struktury chemicznej flawonoidów jest heterocykliczny układ flawanu, składający się z trzech pierścieni, z których środkowy zawiera jeden atom tlenu. Dodatkowo, dzięki obecności pierścieni aromatycznych oraz sprzężonych układów wiązań podwójnych, większość flawonoidów ma zdolność do absorpcji promieniowania UV, najczęściej w zakresie UV-B. Ponadto niektóre flawonoidy, w tym antocyjany, absorbują światło widzialne i są barwne. Natomiast liczne grupy hydroksylowe pełnią rolę grup auksochromowych o charakterze elektronowo-donorowym, zwiększających intensywność absorpcji światła i wpływających na wzrost intensywności barwy. Na podstawie układu grup funkcyjnych i obecności wiązań podwójnych w obrębie środkowego, heterocyklicznego pierścienia, dokonano podziału flawonoidów na kilka grup. Najważniejsze z nich to: katechiny, flawony, flawanony, flawonole i izoflawony [Makowska-Wąs i Janeczko 2004]. W przyrodzie większość flawonoidów występuje w postaci glikozydów. Reszty cukrów związane chemicznie z flawonoidami w połączeniach glikozydowych to najczęściej: glukoza, galaktoza i arabinoza. Flawonoidy wolne, pozbawione cząsteczek cukru, nazywane też aglikonami flawonoidowymi, mają charakter bardziej hydrofobowy i dzięki temu mogą być transportowane przez błony biologiczne w organizmach żywych [Shahidi i Naczk 2005].

Związki polifenolowe są bardzo ważne nie tylko dla roślin, ale także dla zdrowia człowieka. Wykazują one właściwości antyoksydacyjne, chroniąc organizm żywy przed stresem oksydacyjnym. Działanie takie ma na celu nie tylko destrukcję reaktywnych form tlenu, ale także zablokowanie wolnych rodników i enzymów biorących udział w powstawaniu reaktywnych form tlenu, jak np. oksydazy ksantynowej, błonowej

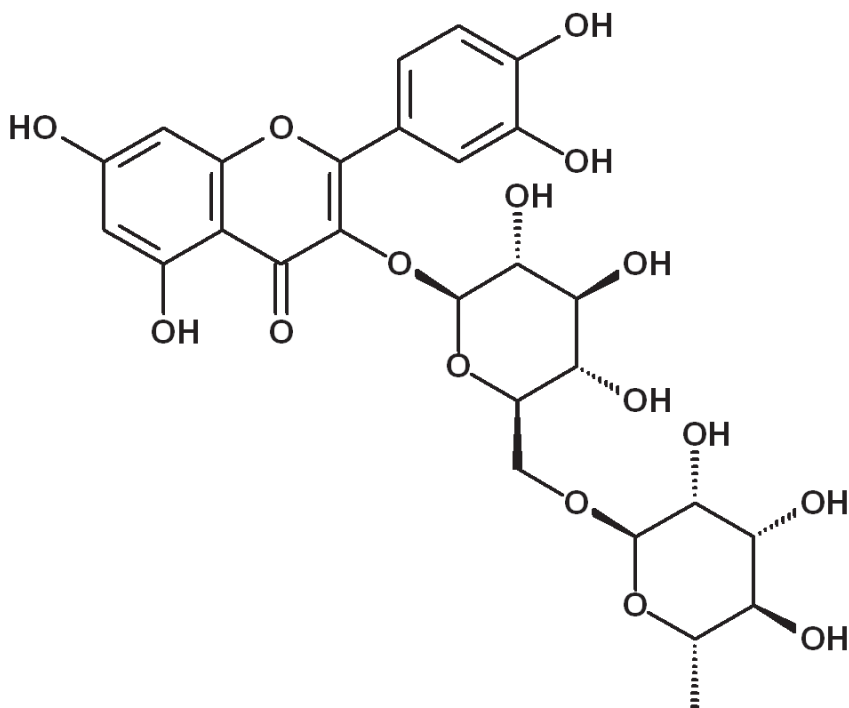
oksydazy NAD(P)H czy mieloperoksydazy. Ponadto związki fenolowe wykazują zdolność chelatowania jonów metali wielowartościowych, zapobiegając powstawaniu reaktywnego rodnika hydroksylowego. Pośrednio flawonoidy mają także zdolność do zatrzymania kaskady przemian wolnorodnikowych w enzymatycznej i nieenzymatycznej peroksydacji lipidów [Rice-Evans i wsp. 1996].

Ekstrakty roślinne o działaniu absorpcyjnym w zakresie UV i przeciwutleniającym

Stopień ochrony przed promieniowaniem UV zarówno fizycznych, jak i chemicznych filtrów przeciwsłonecznych jest w rzeczywistości słabszy niż ten przedstawiony na etykietach produktów kosmetycznych. Co więcej, prace badawcze przeprowadzone przez Haywooda i wsp. [2003] wykazały, że nawet filtry przeciwsłoneczne o szerokim spektrum działania są w stanie zahamować powstawanie wolnych rodników tylko o 55%. Taka sytuacja wymaga włączenia dodatkowych substancji promieniochronnych i przeciwutleniaczy, spoza określonej w przepisach prawnych listy filtrów UV, do preparatów kosmetycznych w celu nadania dodatkowych korzyści uzupełniających skuteczność kosmetyków z filtrami UV. Naturalnymi kandydatami do wypełnienia tej luki są liczne ekstrakty roślinne otrzymywane z egzotycznych roślin pozyskiwanych w różnych częściach świata. Najczęściej przydatność nowych preparatów roślinnych do wykorzystania w kosmetykach promieniochronnych jest szacowana metodami *in vitro*, które są szybsze i mniej kosztochłonne.

W ostatnich latach malezyjscy naukowcy przeprowadzili badanie w celu oceny właściwości przeciwutleniających i fotoochronnych ekstraktu ze skórki *Hylocereus polyrhizus*, jako aktywnego składnika w recepturze kosmetyków promieniochronnych, metodą *in vitro* przy użyciu technik spektrofotometrycznych [Vijayakumar i wsp. 2020]. *Hylocereus polyrhizus* powszechnie znany jako smoczy owoc lub czerwona pitaja jest owocem kaktusa z rodzaju *Hylocereus* o czerwonym miąższu i różowej skórce. Ten egzotyczny owoc pochodzi z Meksyku oraz Ameryki Środkowej i Południowej, a także jest uprawiany w krajach Azji Południowo-Wschodniej, zarówno jako roślina ozdobna, jak i jadalna. Smoczy owoc zyskał światową popularność nie tylko dzięki wyraźnemu

fioletowo-czerwonemu zabarwieniu i wyjątkowej słodczy, ale przede wszystkim dzięki wysokiej zawartości substancji o właściwościach antyoksydacyjnych. Dynamiczny rozwój przetwórstwa *Hylocereus polyrhizus* powoduje generowanie dużej ilości produktów ubocznych – odpadów, zwłaszcza skórek, które są bogatym źródłem przeciwutleniaczy, witamin, błonnika, pektyny oraz barwnika betacyjaniny. Analiza HPLC etanolowego roztworu skórki smoczego owocu potwierdziła obecność sześciu związków zaklasyfikowanych do grupy flawonoidów oraz dwóch kwasów fenolowych – kwasu galusowego i kwasu synapinowego. Dominującym składnikiem okazała się rutyna (rycina 41) – glikozyd kwercetyny, którego część cukrową stanowi disacharyd rutynoza złożony z reszt glukozy i ramnozy.



Rycina 41. Struktura rutyny

Od lat znana jest wysoka aktywność antyoksydacyjna rutyny, która polega na usuwaniu rodników hydroksylowych i nadtlenkowych poprzez ich redukcję powodującą ich neutralizację do bardziej stabilnych i mniej

reaktywnych form. W przeprowadzonym badaniu całkowita aktywność/ zdolność antyoksydacyjna etanolowego ekstraktu skórki *Hylocereus polyrhizus* została oceniona metodą fosforomolibdenową i wahała się na poziomie 23,76%–31,87%. Ponadto dowiedziono, że ekstrakt ten posiada bardzo silny potencjał antyoksydacyjny w porównaniu z kwasem askorbinowym w zakresie neutralizowania wolnych rodników, np. ABTS+ (2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowych)).

Związki fenolowe i flawonoidowe zawarte w skórcie egzotycznego owocu przyczyniły się nie tylko do ogólnej aktywności przeciwutleniającej, ale także do wysokiej wartości SPF i szerokiego spektrum fotoprotekcji przed promieniowaniem UV-A i UV-B. Określanie wartości SPF przeprowadzono metodą spektrofotometryczną przy długości fali od 260 do 400 nm. Jako substancje porównawcze zastosowano tlenek cynku oraz dwa dostępne na rynku produkty przeciwsłoneczne z dwutlenkiem tytanu i 3-benzofenonem. Wartości SPF obliczono według zależności zaproponowanej przez João de Souza Mansura. W pracy oceniono wpływ etanolowego ekstraktu *Hylocereus polyrhizus* o różnych stężeniach w zakresie od 0,05 do 1,00 mg/ml (0,05, 0,10, 0,25, 0,50 i 1,00 mg/ml) pod kątem jego fotoprotekcyjnej aktywności przeciwsłonecznej, przy czym uzyskane wartości SPF wynosiły odpowiednio: 15,38; 22,62; 33,38; 34,35 i 35,02. Badania potwierdziły wzrost fotoprotekcyjnej aktywności przeciwsłonecznej wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu *Hylocereus polyrhizus*. Ponadto wartości SPF badanego ekstraktu były bardzo zbliżone do SPF tlenku cynku i preparatu komercyjnego zawierającego dwutlenek tytanu. Wyniki wyraźnie pokazują, że ekstrakt ten jest dobrym składnikiem fotoprotekcyjnym, gdyż wykazuje absorbancję w szerokim zakresie UV. Przy najniższym stężeniu 0,05 mg/ml posiadał on wartość SPF 15,38. Natomiast w stężeniu 1,00 mg/ml *Hylocereus polyrhizus* wykazywał najwyższą absorbancję 3,608 przy długości fali 300 nm, a więc w obszarze UV-B. Ponadto wykazano silny pik absorpcji w obszarze UV-A o krótkiej długości fali 325 nm, z absorbancją 3,38 [Vijayakumar i wsp. 2020].

Peres i wsp. [2016] również podjęli próbę zbadania wpływu rutyny, flawonoidu o właściwościach antyoksydacyjnych, na fotostabilność i właściwości fotoprotekcyjne preparatu kosmetycznego zawierającego filtr UV-B (INCI: *Ethylhexyl dimethyl PABA*; *Ethylhexyl methoxycinnamate*). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że obecność

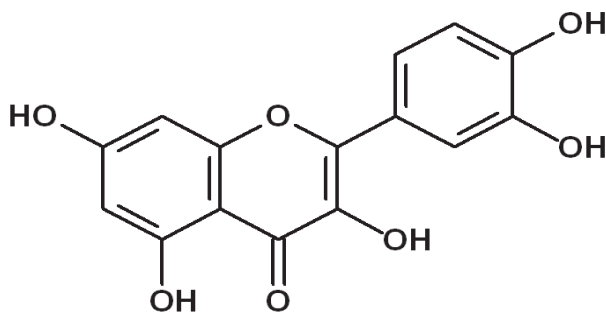
rutyny powodowała dodatnią synergię z wykorzystanym filtrem UV-B, jak również zaobserwowano wzrost skuteczności fotoprotekcyjnej przed promieniowaniem UV-A. Ponadto próbki zawierające rutynę były kompatybilne ze skórą ludzką i wykazywały wyraźny potencjał antyoksydacyjny, tj. o 75% wyższą zdolność neutralizowania wolnych rodników. Niestety obecność rutyny w preparatach analizowanych nie zapobiegała fotodegradacji filtrów przeciwsłonecznych po napromieniowaniu, ale wykazała podwyższenie poziomu ochrony, zwłaszcza w zakresie UV-A. Dodatkowo Tomazelli i brazylijscy współbadacze [2018] dowiedli, że rutyna w połączeniu z filtrami UV podnosi wartość SPF o około 70%.

Badania tunezyjskich naukowców miały na celu ocenę skuteczności działania wodnego ekstraktu z liści rośliny *Carpobrotus edulis* (rycina 39, s. 115) jako surowca kosmetycznego o działaniu fotoprotekcyjnym. Już wcześniej było wiadomo, że roślina ta jest bogata w naturalne polifenole, które stosowane miejscowo wykazują obiecujące działanie ochronne przed fotouszkodzeniami i odpowiedzią zapalną wywołaną promieniowaniem UV [Saewan i Jimtaisong 2013]. Obecność związków fenolowych w badanym ekstrakcie oznaczono spektrofotometrycznie według metody Folin-Ciocalteu, natomiast całkowitą zawartość flawonoidów oceniono metodą autorów: Lamaison i Carnat, która polegała na tworzeniu kompleksu flawonoidów z glinem. Wyniki analiz fitochemicznych potwierdziły obecność 20 związków polifenolowych. Największy udział procentowy wykazywały: katechina należąca do flawan-3-oli (19,39%), procyanidyna B2 (16,04%) oraz 3-O-rutynozyd syringetyny należący do grupy flawanoli (14,28%). Autorzy badań podjęli także próbę porównania składu jakościowego i ilościowego wodnych oraz wodno-alkoholowych ekstraktów z *Carpobrotus edulis*, przy czym zawartość związków fenolowych w ekstrakcie wodnym była prawie dwukrotnie wyższa niż w wodno-etanolowym. Analiza ekstraktów metanolowych wykazała duże zróżnicowanie jakościowe i ilościowe w zależności od badanych organów roślinnych (pędy, korzenie, liście i łodyga) oraz okresu zbioru (wiosna, lato, jesień i zima). W metanolowym ekstrakcie z młodych pędów *Carpobrotus edulis* zidentyfikowano floretynę, kwercetynę, katechinę, procyanidynę B2, (-)-epicatechinę i kwas hydroksycynamonowy, natomiast procyanidynę B2 i (-)-epikatechinę oznaczono w ekstrakcie z korzenia rośliny [Hafsa i wsp. 2016, Falleh i wsp. 2012].

Alkoholowy ekstrakt z pędów *Carpobrotus edulis* poddano także badaniom *in vitro* pod kątem jego właściwości przeciwutleniających oraz ocenie aktywności fotoprotekcyjnej. W celu oceny aktywności fotoprotekcyjnej przygotowano emulsje kosmetyczne typu olej w wodzie (o/w) zawierające ekstrakt o różnych stężeniach: 2% i 10%. Aktywność przeciwrodnikową badanych kremów oceniano metodą *in vitro* poprzez reakcje z DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl). Preparat zawierający największą ilość ekstraktu wykazywał największą aktywność względem rodnika DPPH w porównaniu z pozostałymi preparatami. Świadczy to o większej aktywności przeciwrodnikowej wynikającej z obecności związków fenolowych, szczególnie katechiny i procyanidyny B2, które są silnymi dezaktywatorami wolnych rodników.

Aby skutecznie zapobiegać uszkodzeniom skóry wywołanym przez promieniowanie UV, konieczny jest szeroki zakres jego absorpcji. Na podstawie analizy widma UV badanego ekstraktu podjęto próby oszacowania SPF. Analiza spektrofotometryczna w obszarze UV wykazała, że wodny ekstrakt z liści *Carpobrotus edulis* absorbuje promieniowanie w zakresach UV-C (190–290 nm), UV-B (290–320nm) i UV-A (320–400 nm). Wartości SPF surowego ekstraktu, obliczone na podstawie wzoru Mansura, wynosiły 1,426 i 6,996 odpowiednio dla stężenia 200 i 1000 µg/ml. Uzyskana wartość SPF zbliżona do 7 przy stężeniu 1000 µg/ml odpowiadająca 80–90 procentom blokady UV wskazuje na dużą aktywność fotoochronną tego ekstraktu. Emulsje kosmetyczne zawierające ekstrakt o stężeniu 2% i 10% wykazały wartości SPF odpowiednio 0,646 i 1,626 wyższe od preparatu bazowego. Ponadto ekstrakt roślinny dodany do emulsji o/w w stężeniu 10% wykazywał dobrą aktywność przeciwutleniającą (≈70%) i wartość SPF 1,7, co odpowiada około 50 procentom blokady UV [Lassoued i wsp. 2021].

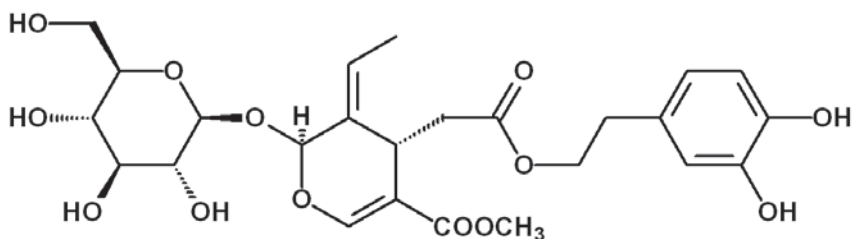
Marcetia taxifolia to endemiczna roślina północno-wschodniej Brazylii, należąca do rzędu mirtowców. Zawiera znaczną ilość flawonoidów i jest szczególnie bogata w kwercetynę (rycina 42).



Rycina 42. Struktura kwercetyny

Potwierdza to analiza HPLC alkoholowego ekstraktu z liści *Marcetia taxifolia* przeprowadzona przez Costę i wsp. [2015]. Podjęli oni także badania mające na celu potwierdzenie antyoksydacyjnego działania analizowanego ekstraktu za pomocą testu DPPH. Dla etanolowego ekstraktu z *Marcetia taxifolia* oznaczono również SPF metodą spektrofotometryczną przy wykorzystaniu równania Mansura. Aby określić stopień aktywności fotoprotekcyjnej przygotowano wzorcową emulsję typu o/w zawierającą benzofenon-3 jako filtr chemiczny UV oraz cztery próby badawcze – emulsje typu o/w zawierające ekstrakt z *Marcetia taxifolia* o stężeniu: 5, 10, 20 i 30%. Wartości SPF badanych ekstraktów były zależne od stężenia – jego wzrost powodował wzrost SPF. Osiągnięto również zadawalającą aktywność przeciwsłoneczną, wymaganą prawem brazylijskim dla kosmetyków fotoprotekcyjnych (SPF > 6), przekraczając minimum określone przez ANVISA (Brazilian Health Regulatory Agency). Ponadto wykazano, że preparaty zawierające ekstrakt etanolowy *Marcetia taxifolia* osiągały wartości SPF zbliżone do często stosowanego w przemyśle kosmetycznym filtra chemicznego benzofenonu-3. *Marcetia taxifolia* ma więc duży potencjał do wykorzystania jako naturalny filtr przeciwsłoneczny.

Aktywność fotoprotekcyjną potwierdzono także w przypadku ekstraktu z liści oliwki europejskiej (*Olea europaea*) [da Silva i wsp. 2019]. Liście oliwne, stanowiące produkt odpadowy, zawierają więcej polifenoli niż oliwa z oliwek. Składnikiem polifenolowym o najwyższej zawartości w badanym ekstrakcie jest oleuropeina (rycina 43) należąca do pochodnych kumaryny zwanych sekoirydoidami.



Rycina 43. Struktura oleuropeiny

Aby określić potencjał fotopochronny liści *Olea europaea* przeprowadzono badania *in vitro* na 20-procentowym standaryzowanym ekstrakcie oleuropeiny. Oprócz analizy absorpcji promieniowania UV oraz badania aktywności antyoksydacyjnej przy zastosowaniu testu DPPH, oceniono także potencjalne działanie fotopochronne i antymutagenne oleuropeiny po naświetlaniu sztucznym światłem UV, symulującym dawkę promieniowania odpowiadającą ekspozycji środowiskowej w Brazylii latem. Ponadto przygotowano promieniochronne emulsje kosmetyczne typu o/w służące jako preparaty porównawcze. Emulsje te zawierały chemiczne filtry UV: benzoesan hydroksybenzoiłohexylu (INCI: *Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate*), metoksycynamonian etyloheksylu (INCI: *Ethylhexyl Methoxycinnamate*) oraz Octocrylene. Następnie wprowadzano do nich badany ekstrakt, celem zbadania SPF metodą transmitancji spektralnej UV. Uzyskane wyniki porównano z wartościami SPF dla analogicznych emulsji typu o/w zawierających niestandaryzowany ekstrakt *Polypodium leucotomos* oraz resweratrolu. W zakresie niższych stężeń ekstrakt z liści *Olea europaea* uzyskał wyższe wartości SPF, nawet w porównaniu z resweratrolem, który wykazuje silną absorpcję w zakresie UV-B. W odniesieniu do aktywności przeciwutleniającej, zdolność oleuropeiny do dezaktywacji rodnika DPPH jest podobna do resweratrolu i wyższa niż witaminy C i E. Potwierdzono także, że ekstrakt z liści oliwnych wykazuje wyższą aktywność przeciwutleniającą niż sama oleuropeina. Oprócz oleuropeiny zawiera on także inne związki polifenolowe, które odpowiadają za jego wysoką aktywność antyoksydacyjną, wykazując synergiczne działanie. To badanie potwierdza słuszność stosowania ekstraktu z liści oliwnych w recepturze preparatów promieniochronnych jako naturalnych składników

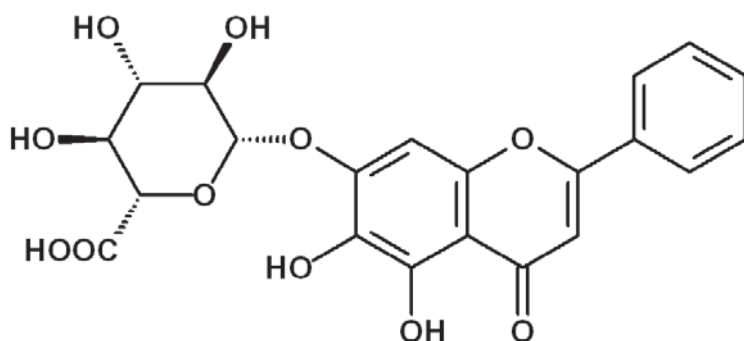
o działaniu fotoprotekcyjnym i antyoksydacyjnym, wykazujących efekt synergiczny w połączeniu z chemicznymi filtrami UV, skutkujący poprawą SPF [da Silva i wsp. 2019].

Sprawdzono także działanie fotoochronne jedenastu ekstraktów wodno-metanolowych z naturalnie występujących na wyspie Cejlon roślin o działaniu leczniczym, stosowanych w tradycyjnej medycynie. W celu określenia zdolności fotoprotekcyjnych badanych ekstraktów zmierzono absorpcję UV, a SPF obliczono zgodnie z równaniem Mansura. Za materiał referencyjny posłużyły dwa dostępne na rynku produkty ochrony przeciwsłonecznej zawierające chemiczny filtr UV (INCI: *Benzophenone-4*) i filtr mineralny – TiO_2 (INCI: *Titanium Dioxide*). Spośród przebadanych ekstraktów, sześć wykazało $\text{SPF} \geq 25$, były to ekstrakty z: *Atalantia ceylanica*, *Hibiscus furcatus*, *Leucas zeylanica*, *Mollugo cerviana*, *Olex zeylanica* i *Ophiorrhiza mungos*. Uzyskane wartości SPF były wyższe niż porównawcze wartości SPF dwóch komercyjnych kremów fotoochronnych [Napagoda i wsp. 2016]. Podsumowując, przebadane ekstrakty roślinne poza działaniem fotoochronnym wykazywały także działanie antyoksydacyjne, co potwierdza, że opracowany na ich podstawie filtr przeciwsłoneczny może wzmocnić system obronny organizmu przed powstawaniem wolnych rodników indukowanych promieniowaniem UV, zapewniając w ten sposób lepszą fotoochronę.

Preparaty roślinne o wielokierunkowym działaniu fotoprotekcyjnym

Drugie podejście do oszacowania działania ochronnego polifenoli przed niekorzystnym wpływem promieniowania ultrafioletowego polega na bezpośrednich obserwacjach skóry ludzkiej lub zwierzęcej pokrytej maścią lub kremem zawierającym badane związki chemiczne, naświetlanej promieniami o odpowiedniej długości fali. Ta grupa metod jest określana mianem *in vivo*, gdyż obejmuje badania z udziałem organizmów żywych. Wnioski można wyciągać na podstawie makroskopowej obserwacji skóry, zmian mikroskopowych, a także zmian stężeń metabolitów. SPF, zgodnie z międzynarodową procedurą, oznaczany jest na podstawie porównania minimalnych dawek promieniowania UV powodujących rumień na skórze (MED, ang. *minimum erythemat dose*) chronionej badaną mieszaniną filtrów oraz na skórze nie chronionej.

Tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis*) to wieloletnia roślina z rodziny *Lamiaceae*, wykorzystywana powszechnie w tradycyjnej medycynie chińskiej, gdzie znana jest pod nazwą *Huang Qin*, co oznacza „żółte zioło”. Naturalnie występuje na obszarze środkowej i wschodniej Azji – Syberia, północne Chiny, Półwysep Koreański i Japonia. Szczególnie cenny dla kosmetologii jest wyciąg z korzenia tarczyczy bajkalskiej, który wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne. Ekstrakt bogaty jest w związki flawonoidowe, z których najistotniejsze to bajkalina (rycina 44), bajkaleina i wagonina.



Rycina 44. Wzór strukturalny bajkaliny

Koreańscy naukowcy podjęli próby określenia antyoksydacyjnego i fotoprotekcyjnego działania butanolowego ekstraktu z korzenia *Scutellaria baicalensis* [Seok i wsp. 2016]. Przeprowadzone badania wykazały silną absorpcję promieniowania UV oraz wysoką aktywność neutralizowania wolnych rodników wobec DPPH i ABTS+. Aby potwierdzić skuteczną ochronę przed promieniowaniem UV ekstraktu z korzenia *Scutellaria baicalensis*, dokonano porównania aktywności dwóch kremów: jeden zawierał mineralny filtr UV – tlenek cynku (ZnO) w stężeniu 24%, a drugi poza ZnO został wzbogacony w 5-procentowy ekstrakt z korzenia tarczyczy bajkalskiej. Badanie *in vivo* przeprowadzone na ludziach potwierdziło, że oba kremy nie powodowały podrażnień skóry, a krem zawierający wyłącznie ZnO wykazywał wartość SPF 17,8. W przypadku kremu wzbogaconego w 5-procentowy ekstrakt z *Scutellaria baicalensis* wartość SPF wzrosła do 22,7 [Peres i wsp. 2018]. Badanie to dowodzi, że ekstrakty z korzenia tarczyczy bajkalskiej są przydatne jako bezpieczne dodatki kosmetyczne zapewniające ochronę przed promieniowaniem UV.

Kwas ferulowy jest związkiem fenolowym powszechnie występującym w jadalnych i uprawnych organizmach roślinnych. W celu zbadania promieniochronnych właściwości tego kwasu brazylijscy badacze sporządzili dwie emulsje zawierające standardową mieszanekę dwóch ogólnie dostępnych filtrów organicznych: *Ethylhexyl triazone* (5%) oraz *Bis-ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine* (10%), przy czym druga emulsja zawierała dodatkowo kwas ferulowy o stężeniu 1%. Następnie oznaczono wartość SPF metodą *in vivo* z udziałem ochotników, którym zaaplikowano badane emulsje na fragment skóry pleców, którą następnie poddawano naświetlaniu lampą UV o spektrum zbliżonym do światła słonecznego. Emulsje zawierające dodatek kwasu ferulowego wykazywały SPF = 26, czyli wyższy o ponad 6 jednostek w porównaniu z emulsjami bez kwasu ferulowego, co daje 32-procentowy wzrost SPF. Zmierzono również współczynnik UVA-PF (*UVA-protection factor*) – ochrony dla światła UV-A, który da się wyznaczyć wyłącznie metodą *in vitro* na podstawie pomiarów transmitancji w zakresie 290–400 nm. Dla emulsji z kwasem ferulowym uzyskano wartość UVA-PF 14, tj. o 24% wyższą w porównaniu z emulsją bez tego składnika. Tak znaczny wzrost przy niewielkiej zawartości kwasu ferulowego nie może wynikać wyłącznie z absorpcji UV przez ten składnik, lecz świadczy o wystąpieniu efektu synergicznego [Peres i wsp. 2018]. Wyjaśnieniem tego efektu może być silne działanie przeciwutleniające kwasu ferulowego, które zostało potwierdzone dodatkowo pomiarami porównawczymi aktywności przeciwutleniającej metodą *ex vivo*, polegającą na pomiarze stopnia peroksydacji lipidów w próbkach zewnętrznej warstwy *stratum corneum* ochotników biorących udział w badaniu.

Podobne pomiary porównawcze przeprowadzono w celu zbadania wpływu glikolowego ekstraktu z owoców występującej naturalnie w Brazylii palmy euterpy warzywnej (*Euterpe oleracea*), czyli jagód açaí (rycina 46, s. 146). Wartości SPF zostały oznaczone metodą *in vivo* z udziałem ochotników. Przeprowadzono badania porównawcze dla receptur zawierających standardowe mieszanki filtrów organicznych: 7% PABA i 3% Benzophenone-3, z dodatkiem oraz bez badanego ekstraktu, uzyskując SPF odpowiednio 25,3 i 22,5. Natomiast UVA-PF wyliczono metodą *in vitro* na podstawie pomiarów transmitancji w standardowym zakresie UV-A. Okazało się, że dodatek ekstraktu z jagód açaí, zawierający duże stężenie polifenoli, w tym przede wszystkim antocyjanów, nie powodował

znaczącego podwyższenia SPF przy nie zmienionym stosunku SPF do UVA-PF [Daher i wsp. 2014]. Biorąc pod uwagę znane i potwierdzone przez wielu autorów działanie przeciwutleniające jagód acai, słabe wyniki zastosowania ekstraktu w recepturach kosmetyków promieniochronnych mogą być zaskakujące. Autorzy publikacji tłumaczą ten efekt trudnościami w doborze oraz wpływem składników pomocniczych, w tym polimerycznych środków powierzchniowo czynnych, zapewniających stabilność badanych emulsji.

W przypadku oznaczenia SPF dla ekstraktów z zielonej oraz białej herbaty metodą *in vivo* grupa badaczy z USA zastosowała inną procedurę. Sporządzono żele zawierające badane ekstrakty, bez dodatku handlowych filtrów UV. Fragmenty skóry ochotników naświetlano przy pomocy lamp UV symulujących promieniowanie słoneczne aż do osiągnięcia MED. Po- przez porównanie z próbami kontrolnymi wykazano, że obie mieszanki posiadają SPF zbliżony do 1, przy czym dla białej herbaty ta wartość jest nieznacznie wyższa, co pozostaje w zgodzie z danymi wskazującymi na wyższe stężenie polifenoli, w tym głównie galusanu 3-epigallokatechiny, w ekstrakcie z białej herbaty [Camouse i wsp. 2009]. Autorzy prowadzili równolegle analizę ilości uszkodzonych przez ultrafiolet komórek układu odpornościowego, w tym komórek Langerhansa, na podstawie badań antygenowych białka CD1a, a także badania stopnia uszkodzeń DNA pod wpływem promieniowania UV na podstawie zawartości 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny, będącej produktem utlenienia kwasów nukleinowych z DNA. Badania wykazały, że naniesione na skórę mieszanki zawierające ekstrakty zarówno zielonej, jak i białej herbaty, w znacznym stopniu zapobiegają negatywnym zmianom zachodzącym w skórze pod wpływem promieniowania ultrafioletowego. Zdaniem autorów świadczy to o tym, że działanie promieniochronne obydwu ekstraktów herbacianych nie wynika tylko z absorpcji promieniowania UV przez składniki ekstraktu, ale dowodzi oddziaływania polifenoli na funkcjonowanie układu odpornościowego wewnątrz skóry.

Wcześniejsze badania właściwości promieniochronnych ekstraktu z zielonej herbaty, również przeprowadzone w USA z udziałem grupy ochotników, wykazały działanie ochronne tego ekstraktu przed negatywnym wpływem ultrafioletu na negatywne zmiany histologiczne w skórze, w tym zniszczenie komórek przez promienie UV, uszkodzenia komórek Langerhansa, a także uszkodzenia DNA.

Aplikacja na skórę roztworów mieszanki wyselekcjonowanych polifenoli z zielonej herbaty, w tym galusanu 3-epigallokatechiny, galusanu 3-epikatechiny, a także (-)-epigallokatechiny i (-)-epikatechiny, pozwalała na znaczne obniżenie poziomu apoptozy keratynocytów przy naświetlaniu lampą UV emitującą światło słoneczne w dawkach dwukrotnie przekraczających dawkę MED, oznaczaną indywidualnie dla pacjentów. Przeprowadzono także porównanie działania promieniochronnego powyższej mieszanki z każdym z wyizolowanych, czystych składników. Oryginalna mieszanka polifenoli dała najlepszy wynik obniżenia rumienia na skórze pod wpływem dawki UV równej dwukrotności MED; dość dobre wyniki uzyskano również przy zastosowaniu obu katechin z przyłączoną resztą kwasu galusowego. Natomiast katechiny pozbawione reszty kwasu galusowego działały znacznie słabiej [Elmets i wsp. 2001]. Ważna dla zrozumienia mechanizmu działania tych związków była obserwacja, że galusany katechin zapewniają ochronę przed szkodliwym wpływem zarówno promieniowania UV-B, jak i UV-A, pomimo tego, że widmo absorpcyjne tych związków wykazuje słabą absorpcję w zakresie UV-A. Świadczy to o występowaniu dodatkowego mechanizmu ochronnego, który może wpływać na synergiczne działanie z tradycyjnymi filtrami organicznymi, ale nie polega na absorpcji promieniowania.

Interesujące wyniki uzyskano podczas badań odwaru z hipokotyli, czyli dolnych części łodyg rosnącej na dużych wysokościach w peruwiańskich Andach endemicznej rośliny pieprzycy peruwiańska (*Lepidium meyenii*), zwanej lokalnie macą. Badania zostały przeprowadzone na znieczulonych szczurach szczepu Wistar, których wygolone fragmenty grzbietów były naświetlane promieniami ultrafioletowymi w różnych, ściśle określonych zakresach, w tym oddzielnie UV-A, UV-B oraz UV-C. Zidentyfikowano zmiany histologiczne zachodzące pod wpływem długotrwałego naświetlania u badanych szczurów, m.in. nienaturalne zwiększenie grubości naskórka. Podanie na skórę szczurów wodnego odwaru z *Lepidium meyenii* zapobiegało negatywnym zmianom zachodzącym w naskórku dla wszystkich trzech badanych zakresów ultrafioletu. Szczegółowe pomiary rozrostu naskórka szczurów wykazały, że odwar z macy zapewnia wyższy stopień ochrony niż komercyjnie dostępny filtr o SPF 30, użyty w próbach kontrolnych. Biorąc pod uwagę wyjątkowo szeroki zakres ochrony przed promieniami UV badanego ekstraktu, obejmujący także promieniowanie UV-C, ekstrakt z *Lepidium meyenii*

może być uwzględniany jako cenny składnik recepturowy. Wykorzystany do badań hipokotyl badanej rośliny jest jadalny i znany w lokalnej medycynie naturalnej. Autorzy zwracają uwagę, że pieprzyca peruwiańska rośnie w Andach, na wysokościach przekraczających 4000 m n.p.m., w warunkach zwiększonego narażenia na promieniowanie UV-C, co wpływa na podwyższenie zawartości substancji ochronnych w roślinach, w tym polifenoli. Na skład ekstraktu wpływał także sposób jego przygotowania, gdyż odwar o najlepszych właściwościach promieniochronnych posiadał zawartość polifenoli wynoszącą 1,36 g związków polifenolowych na 100 g suszonego i liofilizowanego ekstraktu, czyli o 75% wyższą od ekstraktu sporządzanego na zimno, ale także wykazywał nieco inne widmo absorpcyjne w zakresie UV w porównaniu z ekstraktem otrzymanym w niskiej temperaturze. Może to świadczyć o przemianach chemicznych w cząsteczkach polifenoli zachodzących pod wpływem temperatury. Autorzy spektrofotometrycznie oznaczyli przybliżoną zawartość polifenoli, przy zastosowaniu pirogalolu jako wzorca, jednak nie dokonali identyfikacji składników, wskazując, że drugim istotnym składnikiem mającym wpływ na niezwykle właściwości odwaru z *Lepidium meyenii* jest glukozynolan benzylu [Gonzales-Castañeda i Gonzales 2008].

Jako przetworzony materiał pochodzenia roślinno-zwierzęcego można traktować również propolis, czyli kit pszczeli. Gatunki propolisu otrzymywane w różnych regionach świata różnią się składem. Wodno-alkoholowy ekstrakt brazylijskiego czerwonego propolisu o wysokiej zawartości flawonoidów, w tym głównie formononetyny, daidzeiny oraz biochaniny, po usunięciu rozpuszczalnika został wprowadzony w skład emulsji testowanych pod względem ochrony przed promieniowaniem UV na szczurach albinosach szczepu Holtzman. Badane emulsje naniesiono na wygolone fragmenty grzbietów gryzoni, które następnie poddawano naświetlaniu ultrafioletem. Dla porównania, analogiczne eksperymenty wykonano z dodatkiem dostępnego handlowo filtra *Benzophenone-3*. Na podstawie analizy zmian patologicznych powstałych na skórze gryzoni ustalono, że ekstrakt z propolisu wykazywał działanie ochronne w stopniu bardzo zbliżonym do szeroko stosowanej pochodnej benzofenonu. Autorzy badań sugerują, że wysoki stopień ochrony przed poważnymi skutkami naświetlania dużymi dawkami promieniowania UV, obejmującymi zarówno naskórek, jak i skórę właściwą, mogą wynikać nie tylko z właściwości absorpcyjnych polifenoli, ale również z ich działania

przeciwzapalnego [Batista i wsp. 2018]. Dodatkowym argumentem potwierdzającym aktywność przeciwzapalną jest stwierdzenie obniżania w naświetlanych promieniowaniem UV fragmentach skóry poziomu enzymu mieloperoksydazy, która jest uwalniana w reakcjach zapalnych.

Informacje istotne dla zrozumienia działania biologicznego polifenoli można uzyskać także metodami *in vitro*. Taką metodologię zastosowano podczas badania działania promieniochronnego wodno-etanolowego ekstraktu z pestek czerwonych winogron uprawianych w Rumunii. Użytkano ekstrakt zawierający około 3400 mg związków fenolowych na litr, w przeliczeniu na kwas galusowy. Głównymi składnikami ekstraktu były katechiny, procyanidyny oraz antocyjanidyny, a także wolny kwas galusowy. Otrzymany ekstrakt dodawano do hodowli komórkowych keratynocytów HaCaT, które naświetlano lampą UV emitującą szerokopasmowo w zakresie UV-B, po czym badano stopień przeżywalności komórek, jak również stężenia metabolitów, w tym malonodialdehydu będącego produktem wolnorodnikowego utlenienia lipidów. Ustalono, że ekstrakt z pestek czerwonych winogron posiada właściwości promieniochronne, a jego dodatek znacznie zmniejsza procent apoptozy hodowlanych komórek pod wpływem światła UV. Ponadto badany ekstrakt powoduje znaczne obniżenie poziomu malonodialdehydu w naświetlanych promieniami UV liniach komórkowych w porównaniu z próbą kontrolną, co jest dowodem na silne działanie przeciwutleniające składników ekstraktu [Perde-Schrepler i wsp. 2013]. Wynik ten jest potwierdzeniem wcześniejszych badań aktywności antyoksydacyjnej przy udziale stabilnego rodnika DPPH.

Pod względem właściwości promieniochronnych został przebadany również etanolowy ekstrakt z kwiatów drzewa herbacianego, zwanego również kajeputowym (*Melaleuca leucadendron*), a więc rośliny powszechnie występującej w Australii oraz południowo-wschodniej Azji. Uzyskany ekstrakt posiadał wysoką zawartość związków fenolowych, w tym tanin – około 154 mg/1 g ekstraktu, w przeliczeniu na kwas galusowy, natomiast zawartość flawonoidów była znacznie niższa. Właściwości promieniochronne ekstraktu zostały sprawdzone eksperymentalnie metodą *in vitro* z udziałem linii komórkowej keratynocytów HaCaT. Do hodowli komórkowych wprowadzano badany ekstrakt w różnych stężeniach, a następnie naświetlano go ultrafioletem w zakresie UV-B. Autorzy przeprowadzili szereg badań biochemicznych dotyczących stężenia

enzymów oraz metabolitów. Na podstawie badań poziomu kilku enzymów metodą *western blot* wykazano, że badany ekstrakt blokuje wzrost poziomu enzymu cyklooksygenazy COX-2, który występuje w przypadku wzrostu stężenia wolnych rodników wewnątrz komórek, pośrednio przyczyniając się do obniżenia stanów zapalnych, jak również hamuje aktywność tego enzymu [Bianchini Silva i wsp. 2020]. Dane dla podobnych związków [Al.-Sayed i wsp. 2020] wskazują, że polifenole z grupy tanin oddziałują na układ odpornościowy poprzez obniżanie poziomu niektórych cytokin, w tym IL-1 β , IL-6, TNF- α , a także obniżanie aktywności enzymu syntazy tlenku azotu (iNOS) oraz prostaglandyn.

Podsumowanie

Powyższe dane literaturowe pozwalają na syntetyczne spojrzenie na promieniochronne działanie związków polifenolowych. W literaturze dostępnych jest bardzo wiele przykładów korzystnego działania polifenoli na organizm ludzki, w szczególności na skórę człowieka poddawaną działaniu światła UV, pochodzącego tak ze światła słonecznego, jak i ze sztucznych źródeł. Zdolność polifenoli do przenikania do głębszych warstw skóry, różna dla różnych przykładów, powoduje, że korzyść z ich działania promieniochronnego objawia się zarówno na powierzchni skóry, w postaci podwyższenia zewnętrznej ochrony przed promieniowaniem UV dającej się opisać przy pomocy SPF, jak i wewnątrz skóry, obniżając stres oksydacyjny i podwyższając barierę ochrony przeciwnowotworowej.

Działanie promieniochronne polifenoli opisywane jest często jako synergiczne względem dopuszczonych do stosowania w kosmetykach filtrów UV. Różne grupy badaczy, poprzez zastosowanie przyjętych metodologii badań, zwracają uwagę na wybrane aspekty działania ochronnego polifenoli. Jednak zestawione razem dane wskazują na wielokierunkowe działanie tych związków, obejmujące zarówno działanie fizyczne, czyli absorpcję ultrafioletu przez układy chromoforowe cząsteczek, działanie chemiczne poprzez reakcje utleniania–redukcji prowadzące do dezaktywacji wolnych rodników, a także działanie biologiczne, a więc wpływ na procesy biochemiczne zachodzące wewnątrz komórek naświetlanych ultrafioletem. Przy obecnym stanie wiedzy można wyróżnić dwa główne

rodzaje działania biologicznego polifenoli związane z ich działaniem promieniochronnym: przeciwzapalne oraz immunomodulacyjne. Z dużym prawdopodobieństwem można założyć, że bardziej zaawansowane badania mogą dostarczyć dowodów na kolejne mechanizmy działania polifenoli w warunkach stresu oksydacyjnego. Przykładowo, pojawiały się sugestie, że polifenole mogą wpływać na przyspieszenie mechanizmu naprawczego DNA uszkodzonego podczas długotrwałego naświetlania ultrafioletem, jednak mechanizm takiego działania nie został do końca poznany.

Biorąc pod uwagę, że poziom ochrony przed promieniowaniem UV oferowany przez ekstrakty roślinne oraz czyste polifenole nie zawsze jest wystarczający do samodzielnego zapewnienia wysokiej ochrony, polifenole powinny stanowić cenne dodatki skutecznie podnoszące poziom ochrony kosmetyków promieniochronnych. Polifenole stanowią, obok powszechnie stosowanych filtrów mineralnych i organicznych, dodatkowy filar ochrony niezbędny dla skutecznego zabezpieczenia naszej skóry przed wszelkimi skutkami wynikającymi z przyjmowania dawek promieniowania UV.

