Znaczenie roślinnych i syntetycznych składników aktywnych we wspomaganie procesu depigmentacji skóry

Natalia Magdalena Schäfer¹, Radosław Jerzy Balwierz¹, Karol Jasiński², Urszula Skotnicka-Graca³

¹Wydział Chemii, Katedra Farmacji i Chemii Ekologicznej, Uniwersytet Opolski, Opole, Polska

²Collegium Medicum, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Polska

³Wydział Ochrony Zdrowia, Śląska Wyższa Szkoła Medyczna, Katowice, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Adres do korespondencji

Radosław Jerzy Balwierz, Wydział Chemii,
Katedra Farmacji i Chemii Ekologicznej,
Uniwersytet Opolski, ul. Oleska 48,
45-052 Opole, Polska;
e-mail: radoslaw.balwierz@gmail.com

Źródła finansowania

Nie wskazano źródeł finansowania.

Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2021.08.13

Zaakceptowano: 2021.09.28

Opublikowano on-line: 2021.09.30

DOI

10.32383/farmpol/142651

ORCID

Natalia Magdalena Schäfer

(ORCID id: 0000-0003-4620-292X)

Radosław Jerzy Balwierz

(ORCID id: 0000-0002-6173-2702)

Karol Jasiński (ORCID id: 0000-0001-9811-824X)

Urszula Skotnicka-Graca

(ORCID id: 0000-0001-5554-0184)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,

na licencji CC BY NC

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

A significance of botanical and synthetic ingredients in supporting skin depigmentation process

Melanogenesis is a process catalyzed by tyrosinase enzyme leading to synthesis of two types of pigment in the skin: black-brown eumelanin and red-yellow pheomelanin. Pheomelanin is synthesized in the second stage of melanosome maturation, while eumelanin-synthesizing melanosomes are inactive. The black-brown pigment is produced in the third stage of melanosome development. The last, fourth stage of melanosome maturation is characterized by low tyrosinase activity, which reflects the low pigment production in the skin. The process of skin pigment production (melanogenesis) is mainly regulated by solar radiation, hormones and other endo- and exogenous factors. Over-stimulated melanogenesis leads to unsightly hyperpigmentation of the skin. Some substances used in cosmetics have the ability to regulate melanogenesis and lower melanin levels.

The active ingredients on active melanocytes include: azelaic acid and azelaic acid, ferulic acid, ascorbic acid, kojic acid, tranexamic acid, extract of common daisy, licorice root extract, soybean extract, milk thistle extract, white mulberry extract, turmeric and bitter melon leaves extract, aloe extract as well as sericin, hesperidin and niacinamide. The literature also emphasizes the possibility of influencing inactive melanocytes, such ingredients include vitamin A and its derivatives, hydroquinone, arbutin, Chinese tea and ashwagandha. Each of the described active ingredients is characterized by a different activity and partially different mechanism of action, which is based mainly on the inhibition of the activation of enzymes involved in melanogenesis (tyrosinase and TRP-1 and TRP-2 proteins) mainly by: blocking the expression of MITF and binding to copper ions in the active site for tyrosinase. Active substances with a brightening effect applied externally to the skin are effective in hyperpigmentation therapies in which there is an increased amount of eumelanin in melanosomes, an increased activity of melanocytes and an increased transfer of melanin to keratinocytes. The aim of the study was a literature review of the most frequently described active ingredients of natural origin with properties that lighten skin discoloration, paying attention to the potential effectiveness of selected active substances and their mechanism of action with reference to the melanogenesis process.

Keywords: hyperpigmentation, melanogenesis, depigmentation, brightening ingredients.

© Farm Pol, 2021, 77(8): 503-515

Wstęp

Zaburzenia pigmentacyjne są powszechnymi defektami skóry, wynikającymi ze zmniejszenia (hipopigmentacje) lub zwiększenia (hiperpigmentacje) poziomu pigmentu w skórze. Hiperpigmentacje przybierają postać plam o ciemniejszym zabarwieniu niż otaczająca, zdrowa skóra. Przebarwienia znacząco wpływają na wygląd zewnętrzny. Obserwuje się zmiany tego typu u 35% kobiet po 30 roku życia i 90% kobiet po 50 roku życia [1]. Przebarwienia nie występują jedynie u płci żeńskiej, jednak kobiety są bardziej narażone ze względu na znaczący wpływ hormonów płciowych (szczególnie estrogenów) na proces powstawania melaniny [2]. Przebarwienia występują pod postacią: piegów, melasmy, plam soczewicowatych, przebarwień pozapalnych oraz przebarwień powstałych w następstwie reakcji fototoksycznych i fotoalergiczych [1]. Badania dotyczące składników aktywnych o właściwościach depigmentacyjnych często odnoszą się do skuteczności w terapii melasmy. W skórze objętej melasmą obserwuje się nadaktywne melanocyty, które odzwierciedla zwiększona aktywność enzymów i genów zaangażowanych w melanogenezę: tyrozinazy, białek związanych z tyrozinazą 1, 2 (ang. *tyrosinase-related protein 1, 2*, TYRP-1, TYRP-2), czynnika transkrypcyjnego indukującego melanocyty (ang. *melanocyte inducing transcription factor*, MITF), zwiększona dendrytyczność melanocytów, liczba mitochondriów, rybosomów, powiększony aparat Golgiego i bardziej rozbudowane szorstkie retikulum endoplazmatyczne [1, 3]. Inne zjawisko obserwuje się w przypadku plam soczewicowatych (łac. *lentigo simplex*), których obraz histologiczny nie pokazuje zmienionych melanocytów, a zwiększoną liczbę (hiperplazję) prawidłowych melanocytów w warstwie podstawnej naskórka. Warto zaznaczyć, że plamy soczewicowate różnią się histopatologicznie od słonecznych plam soczewicowatych (łac. *lentigo solaris*), bowiem w tych zmianach obserwuje się wydłużone sople naskórkowe ze zwiększoną ilością wyprodukowanej melaniny w szczytach oraz cechy przewlekłego uszkodzenia słonecznego naskórka i skóry właściwej [4]. Piegi to uwarunkowane genetycznie zmiany barwnikowe, charakterystyczne dla I i II fototypu skóry wg Fitzpatricka. W zmianach barwnikowych w postaci piegów obserwuje się zwiększoną produkcję melaniny przy niezminionej liczbie melanocytów. Przebarwienia pozapalne powstają w wyniku rozwoju stanu zapalnego. Mogą rozwijać się z powodu czynników zarówno endo-, jak i egzogennych. Wśród endogennych wyróżnia się atopowe zapalenie skóry,

trądzik pospolity, łuszczycę, liszaj płaski, toczni rumieniowaty, łupież różowy, wyprysk. Wśród egzogennych czynników można wymienić: ukąszenia owadów, urazy, oparzenia, zabiegi laserowe, zabiegi mikronakłuwania, peelingi chemiczne, uczulenia na leki. W zmianach tego typu w odpowiedzi na wytwarzanie mediatorów zapalnych (między innymi: eikozanoidy, cytokiny, reaktywne formy tlenu, endotelina-1), obserwuje się nadaktywność melanocytów bez zwiększenia ich liczby. Przebarwienia, jako powikłanie reakcji fototoksycznych i fotoalergiczych, są zaburzeniami barwnikowymi powstałymi w wyniku kontaktu zewnętrznego lub wewnętrznego z substancją światłouczulającą. Zmiany pigmentacyjne powstałe w wyniku zarówno reakcji fototoksycznych, jak i fotoalergiczych mają postać oparzenia słonecznego z hiperpigmentacją. Na poziomie komórkowym mechanizm powstania tych hiperpigmentacji wynika ze zwiększonej ilości wytwarzanej melaniny oraz zwiększonej liczby melanocytów [1].

Powszechność występowania zaburzeń pigmentacji skłania badaczy do wyszukiwania efektywnych i zarazem bezpiecznych metod ich redukcji. Kosmetyki zawierające roślinne składniki aktywne ukierunkowane na melanocyty i obniżanie poziomu melaniny w skórze są obiecującym sposobem terapeutycznym przebarwień, a dodatkowo pokrywają się z aktualnym rosnącym zainteresowaniem kosmetykami naturalnymi.

Melanina

Melaniny w przyrodzie występują niemal u większości organizmów: ludzi, zwierząt, roślin oraz grzybów. Melanina w nich zawarta odgrywa wiele istotnych funkcji. Przede wszystkim pełni rolę barwnika oraz chroni przed negatywnym działaniem wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, powstających w wyniku działania promieniowania ultrafioletowego. Uczestniczy także w prawidłowym przebiegu procesu widzenia, słyszenia oraz chroni mózg przed chorobami neurodegeneracyjnymi [5–8]. Melaniny syntezowane są w melanosomach – organellach komórkowych wywodzących się z melanocytów. Melanocyty lokalizują się w warstwie podstawnej naskórka, gałce ocznej, mieszkach włosowych, również odpowiadają za barwę skóry, oczu, włosów, ale także występują w mózgu, w uchu wewnętrznym, płucach, sercu, błonach śluzowych i w tkance tłuszczowej [5, 6, 8, 9].

Biorąc pod uwagę różną budowę chemiczną melanin i ich różne właściwości można wyróżnić eumelaniny, feomelaniny i allomelaniny. Eumelaniny to czarnobrazowe pigmenty, dominujące

Tabela 1. Poszczególne stadia rozwojów melanosomów [6].

Table 1. Individual stages of the development of melanosomes [6].

Stadium	Postać melanosomów	Produkcja melaniny (rodzaj powstającego barwnika)
I	Premelanosomy pozbawione składników strukturalnych i tyrozynazy (enzymu katalizującego melanogenezę). Organizacja macierzy melanosomalnej.	Brak
II	Premelanosomy o wydłużonym kształcie i strukturze włókienkowej. Zawierają tyrozynazę i w pełni wykształconą macierz. Różnicowanie między melanosomami syntezującymi eumelaninę (eumelanosomy) i feumelaninę (feumelanosomy). Eumelanosomy w spoczynku. Feomelanosomy są aktywne – rozpoczyna się synteza feomelaniny.	Feomelanina
III	Dojrzałe melanosomy. Odkładanie barwników na wewnętrznych włóknach strukturalnych melanosomu.	Eumelanina, feomelanina
IV	Melanosomy wypełnione wyprodukowaną melaniną.	Maleje aktywność tyrozynazy – spadek produkcji melaniny

u ludzi z ciemniejszym zabarwieniem skóry. Są odporne na działanie enzymów lizosomalnych oraz zapewniają ochronę keratynocytów przed szkodliwym działaniem promieniowania ultrafioletowego. Feomelaniny to żółtoczerwone pigmenty. Dominują w jasnej skórze. W trakcie procesu keratynizacji naskórka są całkowicie degradowane przez enzymy lizosomalne. W następstwie w naskórku powstaje tzw. pył melaninowy. Nie zapewniają właściwości fotoprotekcyjnych, a nawet przyczyniają się do tworzenia wolnych rodników, niszczących struktury komórkowe oraz doprowadzających do rozwoju kancerogenezy [1, 5]. Allomelaniny są to barwniki występujące u roślin syntezowane ze związków fenolowych [6].

Melanogeneza

Synteza melaniny zachodzi w melanosomach. Powstawanie i dojrzewanie melanosomów jest złożonym procesem, który może zostać podzielony na kilka stadiów rozwoju (tabela 1).

Prekursorami premelanosomów są organella endosomalne, gromadzące w swoim wnętrzu białka odpowiedzialne za tworzenie szkieletu macierzy melanosomalnej, takie jak białko Pmel17 oraz antygen MART-1 (ang. *melanoma-associated antigen recognized by T cells*) [6, 10]. Następnie do premelanosomów z aparatu Golgiego dostarczane są enzymy uczestniczące w melanogenezie: tyrozynaza i białko TRP-1 (ang. *tyrosinase-related protein 1*) przy udziale białek AP-1 (ang. *activator protein 1*) i AP-3 (ang. *activator protein 3*) [6].

Melanogeneza to złożony, wieloetapowy proces. Pierwszym etapem katalizowanym przez tyrozynazę jest reakcja hydroksylacji L-tyrozyny do L-DOPA, a następnie utlenianie do DOPACHINONU. Kolejno, przy obecności cysteiny i glutationu dochodzi do kolejnych reakcji utleniania i polimeryzacji, którego produktem końcowym jest feomelanina. Przy nieobecności cysteiny

i glutationu szlak syntezy melaniny doprowadza do wytworzenia eumelaniny. Szczegółowy proces melanogenezy został przedstawiony na **rycinie 1**. [1, 8, 11].

W trakcie melanogenezy wyróżnia się wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnalizacyjne: kaskada cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan/kinaza białkowa A/białko wiążące CREB/czynnik transkrypcyjny związany z mikroftalmią (ang. *cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A/ CRE-binding protein/ microphthalmia associated transcription factor*, cAMP/PKA, CREB/MITF), kinazy aktywowane mitogenami (ang. *mitogen activated protein kinase*, MAPK), fosfolipaza C/diacylglicerol/kinaza białkowa Cβ (ang. *phospholipase/diacylglycerol/protein kinase Cβ*, PLC/DAG/PKCβ) i tlenek azotu/cykliczny guanozylo-3',5'-monofosforan/kinaza białkowa G (ang. *nitric oxide/ cyclic guanosine monophosphate/ protein kinase G*, NO/ cGMP/ PKG) [8, 11]. Szczególną rolę w regulacji melanogenezy odgrywają kaskady sygnalizacyjne z udziałem cyklicznego adenozylomonofosforanu (cAMP) oraz czynnika transkrypcyjnego związanego z mikroftalmią (MITF) [12]. MITF jako jeden z najważniejszych przekazników sygnalizacyjnych reguluje melanogenezę poprzez aktywację transkrypcji genów TYR, TRP1 oraz TRP2. MITF reguluje również dojrzewanie i transport melanosomów oraz proliferację, funkcję i przeżycie melanocytów, chroniąc je przed apoptozą [12, 13]. Niektóre czynniki endogenne (hormony, cytokiny) oraz egzogenne (promieniowanie UV, leki, substancje roślinne) wpływają na podane szlaki sygnałowe, pobudzając albo hamując wytwarzanie barwnika [8, 11].

W kolejnych etapach pigmentacji skóry w pełni dojrzałe melanosomy transportowane są z obszaru okołojądrowego melanocyta do jego wypustek dendrytycznych przy udziale mikrotubul i filamentów aktynowych. Mikrotubule to struktury dwubiegunkowe (jeden koniec obdarzony ładunkiem ujemnym, drugi dodatnim). Melanosomy wędrują zarówno do ujemnego, jak

Rycina 1. Szlaki syntezy melaniny [8].

Figure 1. Melanin synthesis pathways [8].

i dodatniego końca mikrotubul. Kierunek uzależniony jest od białek wiążących się z mikrotubulą: kinezyną lub dyneiną. Transport melanosomów jest również uwarunkowany obecnością białka Rab27a, który łączy melanosom z melanofiliną. Transport melanosomów uwarunkowany jest bowiem wytworzeniem kompleksu melanosom-Rab27a-melanofilina-miozyna Va [6]. Kolejno za pomocą dendrytów melanosomy z upakowaną melaniną transportowane są do keratynocytów. Przyjmuje się, że jeden melanocyt jest w stanie kontaktować się z 36 keratynocytami, tworząc tzw. jednostkę melanocytarną [1, 8].

Jeden melanocyt może zawierać zarówno melanosomy z eumelaniną, jak i z feomelaniną. W trakcie życia liczba melanocytów nie zmienia się i nie warunkuje to bezpośrednio zabarwienia skóry. Na koloryt skóry człowieka składają

się oba barwniki występujące w różnych proporcjach, wielkość, liczba, aktywność melanosomów oraz dystrybucja melaniny do keratynocytów [1, 5, 6, 11].

Rozjaśniające składniki aktywne oddziałujące na aktywne melanocyty

Kwas azelainowy (rycina 2; Ia)

To nasycony 9-węglowy kwas dikarboksylowy naturalnie występujący w grzybach *Pityrosporum ovale* oraz w życie, pszenicy i jęczmieniu. Właściwości depigmentujące opierają się na konkurencyjnym hamowaniu tyrozynazy. Skuteczny w niwelowaniu zmian hiperpigmentacyjnych z nadmierną aktywnością melanocytów, do których należą: przebarwienia pozapalne fototoksyczne, fotoalergiczne oraz melasma. Natomiast jest nieskuteczny w redukcji piegów, plam

Rycina 2. Wzory chemiczne wybranych składników aktywnych oddziałujących na melanocyty aktywne (I) oraz o potencjalnym wpływie na melanocyty w fazie spoczynku (II). Oznaczenia: Ia – kwas azelainowy, Ib – kwas ferulowy, Ic – kwas kojowy, Id – niacynamid, Ie – kwas tioktanowy, If – kwas askorbinowy, Ig – hesperydyna, Ih – kwas traneksamowy; Ila – witamina A (retinol), I Ib – hydrochinon, I Ic – arbutyna.

Figure 2. Chemical structures of chosen active ingredients that shows activity on active melanocytes (I) and potential activity on inactive melanocytes (II). Signs: Ia – azelaic acid, Ib – ferulic acid, Ic – kojic acid, Id – niacinamide, Ie – thiocanoic acid, If – ascorbic acid, Ig – hesperidin, Ih – tranexamic acid, Ila – retinol, I Ib – hydroquinone, I Ic – arbutin.

soczewicowatych, znamion i naturalnie ciemniejszego zabarwienia skóry, ze względu na zawarte w tych zmianach melanocyty w fazie spoczynku [14–17]. W 2019 r. Bezlitz i wsp. [18] opublikowali badanie, w którym opracowano recepturę preparatu w formie nanoemulsji z kwasem azelainowym i kwasem hialuronowym. Zastosowano emulsje typu olej w wodzie opartą na nanotechnologii, zawierającą 10 mg/mL kwasu azelainowego, o wielkości cząstek 419 ± 23 nm i wartości pH $5,01 \pm 0,01$. Preparat był stabilny przez 30 dni. Skuteczność oceniona była na podstawie badania *in vitro* na tyrozinazie grzybowej. Wyniki wykazały, że nanoemulsja hamowała aktywność tyrozinazy. Zaobserwowano również zwiększenie penetracji kwasu azelainowego przez skórę, aż do skóry właściwej. Połączenie obu substancji sprawiło, że kwas azelainowy dłużej zatrzymywał się w skórze, co przekłada się na jego skuteczność.

Nie wykazano również cytotoksyczności preparatu [14, 18]. W innym badaniu klinicznym porównywano działanie 20% kwasu azelainowego i 4% hydrochinonu, na 29 pacjentach z melasmą, przez 2 miesiące. Opierając się na wskaźniku obszaru i nasilenia melasmy (MASI) autorzy wskazują na efektywniejsze działanie kwasu azelainowego w leczeniu tego typu pigmentacji w porównaniu z hydrochinonem. [16, 17]. Inne badanie na 20 pacjentach z fototypem skóry od IV do VI pokazało, że 15% kwas azelainowy w żelu nakładany dwa razy dziennie przez 4 miesiące redukował zmiany trądzikowe oraz przebarwienia pozapalne [16]. W badaniu przeprowadzonym w Polsce, w którym wzięto pod uwagę dermokosmetyki z kwasem azelainowym również potwierdzono poprawę pigmentacji skóry, którą zmierzono aparatem mierzącym koloryt skóry [16]. Hermanns i wsp. [19] w badaniu pilotażowym z udziałem

50 kobiet pochodzenia azjatyckiego wykazali, że preparat zawierający 20% kwasu azelainowego, 5% askorbylu glukozaminy, 1% kwasu kojowego oraz estry α -hydroksykwasów nie były skuteczne w rozjaśnianiu posłonecznych plam soczewicowatych.

Azeloglicyna

Jest pochodną kwasu azelainowego powstałą poprzez połączenie cząsteczki kwasu azelainowego z glicyną. Charakteryzuje się lepszą biodostępnością od jej pierwotnej formy, bowiem posiada większą rozpuszczalność w wodzie. Dodatkowo, efektywność działania tego związku uzyskuje się stosując mniejsze stężenia niż w przypadku kwasu azelainowego. Przyjmuje się, że 10% stężenie azeloglicyny odpowiada 20% stężeniu kwasu azelainowego. Skuteczność azeloglicyny potwierdzają badania, w tym 3-tygodniowe badanie kliniczne, w trakcie którego stosowano preparat z 3% azeloglicyną dwa razy dziennie. Stosowana w stężeniu 5% dwa razy dziennie, wykazuje większą efektywność w rozjaśnianiu przebarwień w porównaniu z arbutyną i dipalmitynianem kwasu kojowego. W terapiach przebarwień słabo reagujących na leczenie można łączyć ją z alfa-hydroksykwasami (ang. *alpha hydroxy acids*, AHA), beta-hydroksykwasami (ang. *beta hydroxy acid*, BHA) i retinoidami. W preparatach kosmetycznych zalecane stężenie nie przekracza 10%. Stosowana w postaci roztworów, emulsji O/W oraz żeli [15].

Serycyna

Jest białkiem, którego źródło stanowią kokony jedwabiu wytwarzane przez jedwabniki morwowe *Bombyx mori*. Serycyna stanowi 15–35% zawartości włókienek jedwabiu, większą część stanowi fibroina (60–80%), a dodatkowo polisacharydy i woski [14]. Wykazano redukcyjny wpływ serycyny na hiperpigmentację, poprzez zmniejszanie aktywności tyrozynazy oraz zmniejszanie wytwarzania cytokin prozapalnych, w tym interleukiny 1 beta (ang. *interleukin 1 beta*, IL-1 β), czynnika martwicy nowotworów alfa (ang. *tumor necrosis factor α*) i tlenku azotu, TNF- α [14].

W 2018 r. opublikowano badania, potwierdzające podane właściwości, przeprowadzone *in vitro* na pojedynczych komórkach melanocytów i komórkach dendrytycznych oraz na modelu sztucznej skóry. Autorzy wykazali, że serycyna ekstrahowana mocznikiem działa przeciwzapalnie, hamując na aktywność tyrozynazy, produkcję cytokin alergicznych i MITF, oraz że nie wpływa na transport melaniny do keratynocytów. Ponadto, związek ten przyczynia się do zwiększenia wytwarzania cytokin

przeciwzapalnych, takich jak: interleukina 4 (ang. *interleukin 4*, IL-4), interleukina 10 (ang. *interleukin 10*, IL-10), transformujący czynnik wzrostu beta (ang. *transforming growth factor β* , TGF- β), co wskazuje na zapobieganie powstawania oraz redukowaniu istniejących przebarwień pozapalnych [14].

Kwas ferulowy (rycina 2; Ib)

Jest związkiem fenolowym, naturalnie występującym w przyrodzie. Należy do grupy kwasów hydroksycynamonowych. W roślinach występuje w nasionach pszenicy, jęczmienia, żyta i owsa [20]. Potwierdzony został potencjał rozjaśniający kwasu ferulowego. Wyizolowany kwas ferulowy z rośliny *Tetragonia tetragonoides* (Pallas) Kuntze (trętwan czterorożny, albo inaczej szpinak nowozelandzki) w badaniu *in vitro* na mysich komórkach czerniaka, stymulowanych hormonem stymulującym melanocyty alfa (ang. *α -melanocyte-stimulating hormone*, α -MSH), hamował syntezę melaniny w zależności od zastosowanej dawki. W dawce 5, 10, 20 μ g/mL blokował ekspresję MITF o kolejno: 13,9%, 25,5% i 43,6% oraz szybkość produkcji tyrozynazy o: 4,7%, 11,8% i 19,1% [14].

Ekstrakt z kurkumy i liści gorzkiego melona

To substancje o znaczącym potencjale rozjaśniającym. Zawarte w nich kurkumina i flawonoidy cechują się hamującym wpływem na proces melanogenezy. Skuteczność obu związków udowodniono w badaniach *in vitro* na modelu naskórka świnki morskiej. Zastosowanie wyciągu z gorzkiego melona i kurkumy w warunkach *in vitro* skutkowało obniżeniem poziomu melaniny. Efekt rozjaśniający został porównany z preparatem z hydrochinonem, tretynoiną i acetonidem fluocynolonu. Stwierdzono, że większe efekty depigmentujące uzyskuje się po połączeniu obu związków niż z zastosowaniem jednego z nich. Sugeruje się, że wynik ten to efekt synergii działania różnych związków czynnych, takich jak: flawonoidy, alkaloidy, terpenoidy, saponiny, taniny, fenole oraz witaminy C [14].

Kwas kojowy (5-hydroksymetylo-4H-piran-4-on)

Jest związkiem pozyskiwanym z grzybów pleśniowych z rodzaju *Aspergillus* i *Penicilium* oraz z bakterii *Acetobacter* (rycina 2; Ic). Cechuje się działaniem antyoksydacyjnym, zwalczającym wolne rodniki oraz działaniem rozjaśniającym. Właściwości depigmentujące opierają się na zdolności hamowania tyrozynazy poprzez blokowanie łączenia miedzi do miejsca aktywnego, wchodząc

z nią w reakcję. Brak związania miedzi z miejscem katalitycznym skutkuje nieprzekształceniem tyrozyny do DOPA, a następnie utlenienie DOPA do DOPACHinonu. Zaburza to dendrytyczną strukturę melanocytów, a poziom melaniny ulega zmniejszeniu [17].

Aloes (*Aloe vera* L.)

Jest rośliną charakteryzującą się wieloma właściwościami kosmetycznymi i leczniczymi. Działa przeciwzapalnie, antyoksydacyjnie, bakteriobójczo, kojąco oraz wykazuje zdolności rozjaśniające. Roślina ta jest częstym surowcem wykorzystywanym w produkcji mleczek, balsamów, płynów do kąpieli oraz preparatów po opalaniu łagodzących skórne oparzenia słoneczne [17]. Zawiera substancje izolowane z liści o działaniu hamującym aktywność tyrozynazy – aloezynę oraz jej pochodną 2-O-feruloiloaloezynę. Aloezyne jest konkurencyjnym inhibitorem, natomiast drugi związek hamuje w sposób niekompetencyjny. W badaniu *in vitro* przeprowadzonym na izolowanych melanoforach z ogonów kijekki jednoznacznie wykazano, że wyciąg z aloesu oraz zawarta w liściach rośliny aloina powodują agregację melaniny, co skutkuje rozjaśnianiem przebarwień [17]. Skuteczność przeciwmelanogenną zwiększa się łącząc aloezynę z arbutyną. Choi i wsp. w badaniu *in vivo* z grupą kontrolną placebo analizowali potencjał hamujący aloezyny i arbutyny na rozwój pigmentacji wywoływanej promieniowaniem UV. Badano aloezynę i arbutynę, stosowane pojedynczo oraz razem, przez 15 dni cztery razy dziennie. Aloezyne blokowała melanogenezę w sposób zależny od dawki, natomiast synergia działania dwóch składników skutkowała silniejszym osłabieniem pigmentacji [16].

Niacynamid (amid kwasu nikotynowego)

To amidowa postać witaminy B₃ (**rycina 2; Id**). Związek ten cechuje się dobrą rozpuszczalnością w wodzie i łatwą penetracją przez skórę. Posiada właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne oraz rozjaśniające. Na zrekonstruowanym modelu naskórka wykazano, że działanie rozjaśniające niacynamidu opiera się na hamowaniu transportu melanosomów z melanocytów do komórek naskórka, co skutkuje nieodkładaniem się melaniny między keratynocytami [17, 21, 22]. Wykazano, że stosowanie niacynamidu w stężeniu 2% w trakcie 4-tygodniowej kuracji zmniejsza przebarwienia oraz rozjaśnia skórę [22]. Działanie rozjaśniające niacynamidu zostało potwierdzone w badaniach *in vitro* i *in vivo*. W badaniu *in vitro*, przeprowadzonym przez Kim i wsp.,

wyzolowana pochodna niacynamidu – N-nikotynilodopaminę (ang. *N-nicotinoyl dopamine*, NND) cechowała się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, zdolnością do hamowania melanogenezy i rozjaśniania na modelu skóry [16]. Castanedo-Cazarez i wsp. [23] w randomizowanym badaniu z podwójną ślepą próbą poddali eksperymentom 4% niacynamid i 0,05% dezonid. Dezonid jest syntetycznym kortykosteroidem o małej sile działania stosowanym w leczeniu stanów zapalnych skóry, charakteryzujący się wysokim profilem bezpieczeństwa. W badaniu udział wzięły 24 kobiety o fototypie skóry III–V, u których widoczne były przebarwienia pod pachami. Uznaje się, że przebarwienia pachowe są odmianą hiperpigmentacji zapalnych. Złogi melanocytowe lokalizują się w naskórku i skórze właściwej z naciekiem zapalnym. Po 9-tygodniowej terapii tymi związkami udowodniono, że zarówno niacynamid, jak i dezonid znacznie poprawiły wygląd przebarwień, zaznaczając, że dezonid wykazywał kilkuprocentową przewagę w skuteczności w porównaniu do niacynamidu. Zadawalające wyniki spowodowane były zarówno działaniem antymelanogennym, jak i przeciwzapalnym związków [23].

Stokrotka pospolita (*Bellis perennis* L.)

Jest to roślina ciesząca się coraz większym zainteresowaniem w kosmetyce. Wykazano, że preparat zawierający ekstrakt z kwiatów stokrotki w stężeniu od 2 do 5% stosowany przez dwa tygodnie umożliwia redukcję przebarwień do 30% [17]. Wykazuje działanie depigmentacyjne, które wynika z obecności saponin, polisacharydów i polifenoli. Związki, które zawierają w swojej strukturze więcej niż dwie grupy hydroksylowe wykazują właściwości enzymatycznego zmniejszania aktywności tyrozynazy. Co więcej są doniesienia mówiące o dwukrotnym silniejszym działaniu preparatu w porównaniu z arbutyną [17].

Kwas tioktanowy (ang. *thioctic acid*)

Inaczej kwas α-liponowy – jest organicznym związkiem z grupy nasyconych kwasów tłuszczowych. Wykazuje właściwości antyoksydacyjne zarówno w środowisku wodnym, jak i lipidowym oraz zmniejsza wrażliwość komórek na działanie promieniowania UV. Rozjaśnia przebarwienia poprzez hamowanie ekspresji i aktywności tyrozynazy, poprzez blokowanie białka MITF oraz wiązanie się z jonami miedzi [21].

Kwas askorbinowy (witamina C)

Jest istotnym związkiem wpływającym na prawidłowe funkcjonowanie nie tylko skóry,

ale całego organizmu (**rycina 2; If**). Naturalnie najwięcej witaminy C występuje w zielonych warzywach (pietruska, warzywa kapustne) oraz świeżych owocach (czarna porzeczka, cytryna, truskawka). Antymelanogenne właściwości witaminy C opierają się na łączeniu z jonami miedzi w miejscu aktywnym tyrozynazy, hamując wytwarzanie barwnika [21, 24]. Badania potwierdzające przeciwpigmentacyjne działanie samej witaminy C bez połączenia jej z innymi składnikami rozjaśniającymi są ograniczone. Wykazano natomiast skuteczne działanie witaminy C w redukcji przebarwień drogą jonoforezy. Huh i wsp. [25] w badaniu *in vivo* na 29 kobietach z melasmą zastosowali jonoforezę z witaminą C. Na jedną połowę twarzy aplikowano roztwór witaminy C, a na drugiej kontrolnej połowie twarzy nakładano wodę destylowaną. Po 12 tygodniach terapii pomiary zmierzone kolorymetrem pokazały zmniejszenie poziomu hiperpigmentacji na obszarze twarzy leczonej witaminą C (z 4,60 do 2,78, $p = 0,002$).

Hesperydyna (**rycina 2; Ig**)

Jest bioflawonoidem naturalnie obecnym w skórze i owocach cytrusowych. Właściwości rozjaśniające hesperydyny zostały udowodnione w wielu badaniach [26–29].

Zhang i wsp. [26] potwierdzili zdolność hesperydyny do hamowania syntezy melaniny bez efektów cytotoksyczności dla komórek. Badanie *in vitro* na komórkach czerniaka B16 i ludzkich pierwotnych melanocytach wykazało, że hesperydyna hamuje tyrozynazę w sposób zależny od dawki. Nieco inne wyniki uzyskali Bora i wsp. [27], w którym hesperydyna nie wykazywała efektu hamującego na tyrozynazę grzybową. Nie wpływała ona również na aktywność melaniny w komórkach czerniaka B16F10. Mechanizm wybielający przebarwienia opierał się wówczas na hamowaniu transportu melanosomów do keratynocytów. Udowodnione zostało to na modelu ludzkiej skóry, na którym stosowano różne stężenia hesperydyny. Nanoszenie na zrekonstruowanej skórze hesperydyny w stężeniu 0,2% przez 14 dni skutkowało znacznym zmniejszeniem pigmentacji w analizowanej tkance. Autorzy w badaniu *in silico* doszli do wniosku, że hamowanie transferu melanosomów przez dany flawonoid jest możliwy, dzięki blokowaniu ekspresji białka związanego z Ras 27A (ang. *Ras-related protein 27A*, RAP27A), którego aktywność jest wyższa w melanocytach o ciemnym zabarwieniu [27].

Heun i wsp. [28] w nowszym badaniu *in vitro* przeprowadzonym na hodowli ludzkich melanocytów i komórek czerniaka B16F10 wskazują na zdolność hesperydyny do blokowania tyrozynazy.

Obniżała poziom tyrozynazy, TRP-1 i TRP-2 przy jednoczesnym zwiększaniu ekspresji kinazy regulowanej sygnałem zewnątrzkomórkowym ERK1/2 (ang. *extracellular signal-regulated kinases*). ERK1/2 degradowała białko MITF, co skutkowało zablokowaniem enzymów melanogennych.

Huang i wsp. [30] w 4-tygodniowym badaniu *in vitro* i *in vivo* poddali ocenie preparat do stosowania miejscowego z 1% hesperydyną. *In vitro* została zbadana zdolność przenikania preparatu przez warstwę rogową z różnymi związkami wspomagającymi: mentol, kwas linolowy, ozon, metyloparaben, kwas stearynowy i glikole polietylenowane. W celu poprawy przenikania hesperydyny zastosowano 4 związki w stężeniu 2,5% każdy: mentol, ozon, lecytynę i kwas linolowy. Mentol okazał się najskuteczniejszym związkiem (zwiększenie przenikania 9,3-krotnie), który zwiększał dyfuzję i rozpad lipofilowego leku. Ozon zwiększał przepuszczalność warstwy rogowej dla wielu związków poprzez efekt fluidyzacji lipidów i zmiany w strukturze keratyny. Kwas linolowy i lecytyna cechowały się mniejszą efektywnością zwiększania przenikalności dla preparatu (ok. 4–5-krotny wzrost), natomiast przypisuje się im właściwości odbarwiające. Kwasy tłuszczowe zwiększają płynność lipidów w naskórku, ułatwiając wchłanianie substancji aktywnych. Czterotygodniowe badanie *in vivo* wykazało, że preparat z 1% hesperydyną zwiększał jasność skóry traktowanej promieniowaniem UV, szczególnie po 21 dniach stosowania, wskazując na depigmentujące właściwości tego związku. Zbadano również tolerancję skóry na dany preparat, wykonując pomiary przeznaskórkowej utraty wody jako wskaźnika podrażnienia. Wyniki wykazały, że stosowanie preparatu z hesperydyną zmniejsza podrażnienie skóry wywołane działaniem ultrafioletu, co może być uwarunkowane właściwościami przeciwzapalnymi charakterystycznymi dla flawonoidów [30].

Usach i wsp. [31] w badaniu *in vitro* na ludzkich melanocytach wykazali natomiast, że hesperydyna w stężeniu 25 i 50 μM indukowała syntezę melaniny i zwiększały aktywność tyrozyny blisko 1,1- i 1,4-krotnie. Badania wskazują na niejasny wpływ hesperydyny na pigmentację skóry.

Morwa biała (**Morus alba L.**)

Jest rośliną bogatą w polifenole oraz substancje o znaczącym potencjale wybielającym. Jest nią na przykład oksyresweratrol – inhibitor enzymu tyrozynazy [21]. W badaniach *in vitro* oceniano składnik aktywny izolowany z liści morwy – mulberozyd F (ang. *mulberroside F*). Hamuje on aktywność tyrozynazy, transfer melaniny do keratynocytów oraz wychwytuje reaktywne formy

tlenu. Sang i wsp. [32] w swoim badaniu wykazali, że wyciąg z liści morwy w ilości 100 µg/mL hamował oksydazę DOPA na tyrozinazie grzybowej w 51,6%, a w ilości 0,29 µg w 50%. Ponadto autorzy stwierdzili, że ekstrakt z liści morwy jest 4,5-krotnie efektywniejszy od kwasu kojowego. W randomizowanym badaniu klinicznym Alvin i wsp. [33] badali skuteczność oleju z 75% ekstraktem z morwy w leczeniu melasmy. Wyniki zostały porównane z grupą placebo. Opierając się na pomiarach wyznaczonych meksametrem, skali MASI oraz skali jakości życia z melasmą (z ang. *melasma quality of life scale*, MelasQOL), wykazano poprawę w redukcji hiperpigmentacji w grupie leczonej.

Kwas traneksamowy (TA, kwas trans-4- -aminometylocykloheksano- karboksylowy)

To syntetyczna pochodna lizyny (**rycina 2; Ih**). Jest lekiem antyfibrolitycznym powszechnie stosowanym w zapobieganiu nieprawidłowej fibrylizacji i zmniejszaniu utraty krwi. Mechanizm działania leczniczego opiera się na blokowaniu miejsca wiązania lizyny na cząsteczce plazminogenu; hamuje to przekształcanie plazminogenu w plazminę przez tkankowy aktywator plazminogenu (ang. *tissue plasminogen activator*, t-PA). Cząsteczki plazminogenu znajdują się także w komórkach podstawnych naskórka; keratynocyty wytwarzają t-PA, co skłania do stwierdzenia, że kwas traneksamowy wpływa na interakcje tych komórek. Promieniowanie UV indukuje wytwarzanie t-PA i aktywność plazminogenu, zwiększa się ilość kwasu arachidonowego w naskórku, a następnie czynnika wzrostu prostaglandyn i fibroblastów oraz α-MSH. Ponadto, TA w swojej strukturze zawiera fragment podobny do tego w tyrozinie, czyniąc go inhibitorem enzymu tyrozinazy. Właściwości hamujące plazminę oraz enzym tyrozinazę przez TA tworzą z niego związek skuteczny w leczeniu hiperpigmentacji, szczególnie melasmy. Autorzy podawali analizie kwas traneksamowy podawany doustnie, miejscowo, śródskórnym oraz metodą mikroigłową [14, 34].

W 2017 r. Taraz i wsp. [34] opublikowali metaanalizę, w której zgromadzili wyniki badań redukujących melasmę przez TA. TA doustnie najczęściej był podawany w dawce 500–1500 mg, 2–3 razy dziennie przez 1–6 miesięcy. Po miesiącu spożywania leku były widoczne pierwsze właściwości depigmentujące. Odnotowywano jednak skutki uboczne stosowania TA, najczęściej ze strony układu pokarmowego, takie jak: zgaga, nudności, ból brzucha oraz zaburzenia

miesiączkowania. TA stosowany miejscowo w postaci 2% emulsji, 3% kremu, 5% roztworu i 5% kremu liposomalnego działał efektywnie w redukcji melasmy i nie niósł za sobą poważnych skutków ubocznych. Spośród sześciu przeprowadzonych badań, jedno wykazało niedostateczne dowody działania TA, co według autorów metaanalizy może być powodem małej liczebności grupy i wdrożenia dodatkowo preparatów przeciwsłonecznych. Podawany poprzez mikronakłucie, jak w przypadku podawania miejscowego, nie powodował istotnych skutków ubocznych [34].

Wyciąg z korzenia lukrecji (*Liquiritiae radices extractum*) z rośliny *Glycyrrhiza glabra* L.

Zawiera duże ilości flawonoidów, z których największe znaczenie ma glabradyna oraz likwirytyna. Glabradyna działa inhibitująco na enzym tyrozinazę oraz chroni komórki skóry przed działaniem promieniowania UVB. Ogranicza również aktywność cyklooksygenazy i tworzenie wolnych rodników, dzięki czemu wykazuje właściwości przeciwzapalne. Likwirytyna zapobiega kumulowaniu się melaniny oraz stymuluje odnowę naskórka [21]. W badaniu *in vitro* glabradyna wykazała 16 razy silniejszy efekt rozjaśniający w porównaniu z hydrochinonem oraz możliwość hamowania pigmentacji wywoływanej promieniowaniem UVB. W badaniu klinicznym z udziałem 18 pacjentów oraz *in vitro* na modelu skóry MelanoDerm™ porównywano preparat zawierający kilka składników rozjaśniających w tym glabradynę i hydrochinon oraz preparat z samym 4% hydrochinonem. Preparat łączony wykazał większą zdolność przeciwpigmentacyjną w porównaniu z 4% hydrochinonem [16]. Natomiast Amer i wsp. [35] w kontrolowanym badaniu z podwójną ślepą próbą na 20 kobietach z melasmą zbadali likwirytynę. Badani stosowali krem z 20% likwirytyną na jednej połowie twarzy i inny krem na drugiej stronie twarzy dwa razy dziennie przez miesiąc. U większości badanych preparat z likwirytyną dał lepsze rezultaty. Zubair i wsp. [36] w badaniu klinicznym z udziałem 90 pacjentów z melasmą porównali skuteczność 2% i 4% likwirytyny oraz 4% hydrochinonu. Badani zostali podzieleni na trzy grupy, w których każda stosowała jeden z podanych związków na skórę przez 8 tygodni. Wykazano, że miejscowo aplikowana 4% likwirytyna była skuteczniejsza od 2% likwirytyny, a ta przyniosła lepsze rezultaty w obniżaniu melaniny niż 4% hydrochinon.

Soja (*Glycine max* L.)

Roślina z rodziny bobowatych. Podobnie jak niacynamid, ekstrakt z soi hamuje transfer

melanosomów z melanocytów do keratynocytów. Działanie te uwarunkowane jest zawartością inhibitujących proteaz serynowych, sojowych inhibitorów trypsyny oraz inhibitorów proteaz Bowmana-Birka. Ziarna soi zawierają duże ilości izoflawonoidów, takich jak: daidzeina, genisteina i glicyteina, które warunkują właściwości ochronne przed światłem słonecznym oraz antyoksydacyjne soi [17, 21, 22]. Hermanns i wsp. [37] w badaniu oceniającym skuteczność związków depigmentujących u probantów z II fototypem skóry wykazali, że aplikacja ekstraktu z soi oraz kwasu azelainowego skutkuje znacznym rozjaśnieniem skóry po 3-tygodniowej terapii. Autorzy wskazują, że ekstrakt z soi zmniejsza hiperpigmentację poprzez interakcję z receptorem PAR-2 (ang. *protease-activated receptor 2*) keratynocytów. Wallo i wsp. [38] w 12-tygodniowym badaniu klinicznym z udziałem 65 kobiet z objawami fotostarzenia wykazali, że preparat nawilżający zawierający ekstrakt z soi rozjaśnia skórę, zmniejsza widoczność drobnych zmarszczek oraz ogólnie wygładza teksturę skóry. Pierwsze efekty widoczne były już po 2 tygodniach aplikacji preparatu. W innym badaniu stosowanie ekstraktu z soi na obszary melasmy przez kobiety rasy kaukaskiej i latynoskiej raz dziennie przez trzy miesiące redukowało obszary pigmentacyjne o 12% [16]. Autorzy badań sugerują, że efekt rozjaśniania skóry przez soję można zauważyć po 12 tygodniach stosowania dwa razy dziennie [22].

Wyciąg z ostropestu plamistego (*Silybum marianum* L.)

Zawiera cenne w kosmetyce flawonolignany (1,5–3% zawartości), w której skład wchodzi sylibina, sylidianina, sylikrystyna. Związki te o podobnych właściwościach zostały objęte wspólną nazwą – sylimaryna. Są to związki o udowodnionym działaniu przeciwzapalnym. Mechanizm przeciwzapalny polega na zmniejszaniu ruchliwości neutrofilii oraz hamowaniu uwalniania histaminy. Dobroczynne właściwości sylimaryny ujawniają się również w innych aspektach. Chroni ona błony komórkowe przed oddziaływaniem składników toksycznych. Sylibina natomiast (najbardziej aktywna spośród flawonolignanów) ogranicza powstawanie prostaglandyn z kwasu arachidonowego, które biorą udział w rozwoju stanu zapalnego [39]. Sylimarynie przypisuje się właściwości niwelujące negatywny wpływ promieniowania słonecznego na skórę oraz ochronne przed powstaniem uszkodzeń w strukturze DNA [14, 21]. Sylimaryna wywiera hamujący wpływ na proces melanogenezy, równocześnie będąc bezpiecznym związkiem, nie wpływającym na żywotność komórek nawet w wysokich dawkach.

W 2019 r. Nofal i wsp. [40] potwierdzili skuteczność i bezpieczeństwo miejscowej aplikacji sylimaryny w leczeniu melasmy. Badanie przeprowadzono na 42 dorosłych pacjentkach z melasmą o różnym nasileniu, czasem trwania i głębokością hiperpigmentacji. Nasilenie zmian oceniono na podstawie skali MASI (ang. *melasma area and severity index*) na: łagodne, umiarkowane i ciężkie. W skali tej ocenia się powierzchnię zmiany, kolor i jednorodność hiperpigmentacji na obszarze czoła, prawego i lewego policzka oraz brody. Pacjentki podzielono na trzy, czternastoosobowe grupy. Grupa pierwsza stosowała przez trzy miesiące krem dwa razy dziennie z sylimaryną w stężeniu 0,7%, druga z 1,4% sylimaryną, a trzecia stosowała przez ten sam okres, ale jedynie raz na noc krem z 4% hydrochinonem. Działanie preparatów porównano z hydrochinonem, gdyż jest on najpopularniejszym i najczęściej badanym związkiem stosowanym w leczeniu melasmy. Wyniki sporządzono na podstawie porównania skali MASI oraz indywidualnej satysfakcji pacjenta. Wykazano, że 0,7% sylimaryna stosowana przez 3 miesiące ogranicza nasilenie melasmy o ok. 39,21%, 1,4% sylimaryna o ok. 33,84%, a 4% hydrochinon o ok. 46,75%. Zaznaczając przy tym, że po zastosowaniu hydrochinonu zgłoszone zostały niepożądane skutki uboczne w postaci rumienia oraz uczucia „palenia”. Następnie po zastosowanej kuracji przez sześć miesięcy obserwowano badane pacjentki. Zaobserwowano nawrót hiperpigmentacji u jednej osoby z grupy pierwszej i jednej z grupy drugiej oraz u trzech osób z grupy trzeciej [14, 40].

Składniki aktywne o potencjalnym wpływie na melanocyty w fazie spoczynku

Witamina A i jej pochodne

Objęte są wspólną nazwą retinoidów. Związki te można podzielić na pochodne naturalne i syntetyczne. Wśród naturalnych wymienia się: retinol (**rycina 2; IIa**), palmitynian retinyli (INCI: *retinyl-palmitate*), octan retinyli (INCI: *retinyl-acetate*), retinaldehyd (INCI: *retinaldehyde*), tretynoina (INCI: *tretinoin*), izotretynoina (INCI: *isotretinoin*), alitretynoina (INCI: *alitretinoin*). Syntetycznymi są: tazaroten (INCI: *tazarotene*) i adapalen (INCI: *adapalene*). Głównymi przedstawicielami tej grupy są retinol oraz kwas retinowy (tretynoina), ze względu na najwyższą aktywność. Octan retinyli i palmitynian retinyli uważane są, za najmniej skuteczne. Green i wsp. w kontrolowanym, wielotygodniowym badaniu klinicznym z próbą placebo nie odnotowali istotnych różnic między estrową pochodną witaminy

A – propionianem retinylu a placebo [41]. Retinol niweluje przebarwienia skórne hamując transfer melanosomów do keratynocytów oraz zmniejszając aktywność tyrozynazy. W celu zwiększenia efektywności działania retinol łączy się z α -hydroksy kwasami, β -hydroksy kwasami, kwasem ferulowym oraz antyoksydantami, takimi jak witamina C i E. Tretynoina wpływając na cykl komórkowy keratynocytów przyspiesza złuszczenie naskórka. Stosowana jest w redukcji hiperpigmentacji pozapalnych, melasmy i plam soczewicowatych w stężeniu 0,05–0,1%. Długotrwała terapia owocuje równomiernym rozkładaniem się melaniny oraz zmniejszeniem ilości barwnika obecnego w głębszych warstwach skóry. W leczeniu przebarwień może być łączona z hydrochinonem lub kortykosteroidami [17, 21].

W randomizowanym badaniu klinicznym, przeprowadzonym przez Griffiths i wsp. [42], 38 kobiet z melasmą stosowało 0,1% tretynoinę przez 40 tygodni. Pierwszy efekt redukcji przebarwień widoczny był po 24 tygodniach stosowania tretynoiny. Po 40 tygodniach terapia ta skutkowała rozjaśnieniem naskórka o 36%. Odnotowano również objawy niepożądane u 88% osób, takie jak rumień i łuszczenie naskórka.

W innym badaniu klinicznym, Herndon i wsp. [43] ocenili skuteczność podwójnego schematu łączonego: preparatu z 0,5% retinolem oraz kremu z 30% witaminą C (w postaci askorbinianu tetraheksylodecylu) w niwelowaniu łagodnych i umiarkowanych przebarwień twarzy i fotouszkodzeń skóry na grupie 44 pacjentów. Przez 12 tygodni badani codziennie rano po oczyszczeniu skóry stosowali na całą twarz krem z witaminą C oraz przez pierwsze 2 tygodnie, co drugi wieczór, 0,5% retinol, a następnie po tym czasie codziennie na noc (w przypadku wystąpienia podrażnień kontynuowali stosowanie co drugi wieczór). Połączony schemat retinolu i witaminy C wykazywał u 79% badanych ogólny wzrost jasności skóry o 9,4%, u 72% zmniejszenie zaczerwienienia o 10,7%, u 86% poprawa jędrności skóry o 10,3%, u 75% ogólne zmniejszenie hiperpigmentacji o 9,9% oraz u 90% zmniejszenie fotouszkodzeń o 10,5%. Dodatkowo zaobserwowano redukcję zmarszczek, zwiększenie nawilżenia skóry oraz ogólne rozświetlenie, wygładzenie struktury naskórka i młodszy, zdrowszy wygląd.

Podobne wyniki uzyskali Farris i wsp. [44] w 10-tygodniowym badaniu na 25 probantach z łagodnymi i umiarkowanymi przebarwieniami. Ocenie poddano preparat z 0,5% retinolem, 4,4% niacynamidem, 1% resweratrolem i 1,1% heksyloresorcynolem. Badani stosowali preparat codziennie na skórę twarzy na noc oraz krem przeciwsłoneczny SPF 30 w ciągu dnia.

Wyniki pokazały, że już po 2 tygodniach stosowania poprawie uległa tekstura skóry, stała się gładsza oraz uległy złagodzeniu drobne linie. Po 4 tygodniach zaobserwowano rozjaśnienie przebarwień, wyrównanie kolorytu skóry i zmniejszenie zmarszczek. Wyniki tolerancji wykazały, że na początku badania u pacjentów wystąpiło lekkie zapalenie skóry w postaci zaczerwienienia i łuszczenia.

Hydrochinon (1,4-di-hydroksybenzen)

Związek występujący w organizmach roślinnych, zwierzęcych i bakteryjnych (**rycina 2; IIb**). Pozyskiwany również poprzez hydrolizę arbutyny. Jest składnikiem o potwierdzonym działaniu rozjaśniającym, którego mechanizm opiera się na blokowaniu tyrozynazy poprzez interakcję z miedzią w miejscu aktywnym [20, 28]. Hamuje również syntezę DNA i RNA oraz wpływa na tworzenie się melanosomów, co w konsekwencji prowadzi do niszczenia melanocytów [45]. Zaproponowano, że antypigmentacyjne właściwości hydrochinonu mogą wynikać także z generowania wolnych rodników, degenerujących białka i lipidy w błonach komórkowych [17, 21].

Glukozyd hydrochinonu (arbutyna)

To glikozyd fenolowy występujący w postaci anomerów α i β arbutyny. β -arbutyna (**rycina 2; IIc**) występuje naturalnie w przyrodzie, natomiast α -arbutyna jest związkiem pozyskiwanym syntetycznie oraz wykazującym się większą aktywnością od naturalnej formy. Źródłem arbutyny są liście borówki brusznicy (*Vaccinium vitis-idaea* L.) oraz liście mącznicy lekarskiej (*Arctostaphylos uva-ursi* L.). W kontekście działania depigmentującego, arbutyna hamuje działanie tyrozynazy dwiema ścieżkami. Po pierwsze oddziałuje na poziomie przemiany tyrozyny do DOPA, nie dopuszczając do reakcji. Po drugie oddziałuje na etapie oksydacji DOPA do DOPA-chinonu, poprzez przyłączanie się do miejsca aktywnego. Arbutyna spowalnia także dojrzewanie melanosomów, które wynika z działania na polimerazę DHICA [21].

Herbata chińska (*Camellia sinensis* L.)

Jest źródłem polifenoli, wśród których wyróżnia się katechiny należące do flawan-3-oli o znaczącym działaniu antyoksydacyjnym, przeciwzapalnym, przeciwnowotworowym, chroniącym przed promieniowaniem UV oraz hamującym melanogenezę. Wskazuje się na rozjaśniający wpływ ekstraktu z zielonej herbaty w redukcji piegów, plam starczych oraz melasmy.

Najważniejszym polifenolem odpowiadającym za podane właściwości jest galusan epigallokatechiny (EGCG). Mechanizm działania EGCG opiera się na obniżaniu poziomu białek MITF regulujących proces melanogenezy. Ekstrakt z zielonej herbaty wykazuje większą skuteczność w synergii z witaminą C, A i E [14, 21]. W badaniu Kim i wsp. [46] udowodniono przeciwpigmentacyjne właściwości ekstraktu z zielonej herbaty. Badanie przeprowadzono *in vitro* na komórkach melan-A. W trakcie badania oceniono wpływ ekstraktu z herbaty na aktywność tyrozynazy oraz ekspresję enzymów melanogennych. Wykazano, że herbata hamuje tyrozynazę poprzez chelatowanie miedzi. W innym badaniu stwierdzono, że herbata chińska oolong wywiera większy wpływ blokujący melanogenezę w komórkach czerniaka B16 niż kwas askorbinowy [46].

Ashwagandha, inaczej indyjski żeń-szeń (*Withania somnifera* L.)

Roślina wykorzystywana w Ajurwedzie, tzn. tradycyjnej medycynie indyjskiej. W preparatach ajurwedyjskich najczęściej wykorzystuje się korzenie tej rośliny, jednak łodyga i liście również mają cenne właściwości lecznicze ze względu na zawartość dużej ilości związków bioaktywnych, między innymi: laktonów steroidowych, alkaloidów i kwasów fenolowych [47]. Imokawa i wsp. [48] ocenili skuteczność przeciwmelanogenną ekstraktów z ziół *Withania somnifera*, *Melia tosendan* oraz astaksantyny. Autorzy wskazują na właściwości obniżające poziom melaniny w naskórku poprzez modulację ścieżki sygnałowej melanogenezy przez te substancje, bez ryzyka wystąpienia hipopigmentacji (odbarwień) skóry. Ekstrakt z ashwagandhy blokuje ekspresję cytokin zapalnych, TNF- α , IL-1 i IL-12, hamuje aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego kappa beta (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, NF- κ B) oraz reguluje sygnalizację MAPK. Według autorów podane substancje roślinne poprzez hamowanie wewnątrzkomórkowych kaskad sygnalizacyjnych są zdolne do zmniejszania hiperpigmentacji typu: przebarwień indukowanych działaniem promieniowania UVB, plam soczewicowatych i melasmy [48].

Podsumowanie

Mechanizm działania rozjaśniającego wybranych substancji opiera się głównie na hamowaniu aktywacji enzymów biorących udział w melanogenezie (tyrozyna oraz białka TRP-1 i TRP-2) głównie poprzez: blokowanie ekspresji MITF oraz wiązanie się z jonami miedzi w miejscu aktywnym dla tyrozynazy. Substancje rozjaśniające mogą także

hamować transfer melanosomów do keratynocytów, np. poprzez blokowanie ekspresji RAP27A, którego większą aktywność obserwuje się w melanocytach o ciemnym zabarwieniu. Niektóre substancje, takie jak retinoidy, nie tylko oddziałują na proces melanizacji naskórka, ale również regulują jego keratynizację, przyspieszając złuszczenie nabłonka.

Wskazuje się, że substancje aktywne o działaniu rozjaśniającym stosowane zewnętrznie na skórę są skuteczne w terapiach przebarwień, w których stwierdza się zwiększoną ilość eumelaniny w melanosomach, zwiększoną aktywność melanocytów oraz zwiększony transfer melaniny do keratynocytów. Cechy te stwierdza się w przypadku melasmy. W przypadku plam soczewicowatych, które cechują się hiperplazją melanocytów, większość przedstawionych składników aktywnych nie wykazuje skuteczności [19]. Hydrochinon może być skuteczny w terapiach plam soczewicowatych, ale wiąże się z wystąpieniem skutków ubocznych (jednak ze względu na cytotoksyczność i mutagenność w 2006 r. został wycofany) [45]. Obiecującymi substancjami naturalnymi o właściwościach rozjaśniających zmiany pigmentacyjne są ekstrakty z herbaty chińskiej oraz z żeń-szenia indyjskiego – jednak te wymagają dalszych badań [46, 48].

Efektywność rozjaśniająca substancji aktywnych pochodzenia naturalnego wzrasta wraz ze zwiększoną aktywnością melanocytów [19].

Piśmiennictwo

- Engler-Jastrzębska M, Kamm A. Molekularne podstawy pigmentacji skóry. Etiologia i profilaktyka hiperpigmentacji. *Kosmetologia Estetyczna* 2019; 3: 275–284.
- Pietrzak B, Wlazlak E, Zwierzyńska E. Estrogeny stosowane długotrwale: korzyści czy ryzyko. *Postępy Hig Med Dosw.* 2015; 69: 285–293.
- Sarkar R, Bansal A, Ailawadi P. Future therapies in melasma: What lies ahead? *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2020; 86: 8–17.
- Fedorowicz T, Adamski Z. Dermatologia dla kosmetologów: Zaburzenia barwnikowe skóry. Edra Urban & Partner Wrocław; 2019; 131–132.
- Lopusiewicz L, Lisiecki S. Czarne złoto – melaniny w życiu człowieka. *Kosmos* 2016; 65: 621–629.
- Rok J, Otręba M, Buszman E, Wrześniok D. Melanina – z melanocytu do keratynocytu, czyli jak przebiega transport melaniny w skórze. *Annales Academiae Medicae Silensiensis* 2012; 66: 60–66.
- Lopusiewicz L, Lisiecki S. Melaniny w diecie człowieka. *Kosmos* 2018; 67: 555–563.
- Rzepka Z, Buszman E, Beberok A, Wrześniok D. Od tyrozyny do melaniny: ścieżki sygnalizacyjne i czynniki regulujące melanogenezę. *Postępy Hig Med Dosw.* 2016; 70: 695–708.
- Delijewski M, Buszman E, Wrześniok D. Oddziaływanie nikotyny z melaniną. *Annales Academiae Medicae Silensiensis* 2013; 67: 361–366.
- Berson J, Harper C, Tenza D, Raposo G, Marks M. Pmel17 Initiates Premelanosome Morphogenesis within Multivesicular Bodies. *Molecular Biology of the Cell* 2001; 12: 3451–3464.
- Ata P, Majewski S. Mechanizmy pigmentacji skóry. *Przegl Dermatol.* 2013; 100: 184–188.
- Otręba M, Rok J, Buszman E, Wrześniok D. Regulation of melanogenesis: the role of cAMP and MITF. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine* 2012; 66: 33–40.

13. Levy C, Khaled M, Fisher D. MITF: master regulation of melanocyte development and melanoma oncogene. *Trends in Molecular Medicine* 2006; 12: 406–414.
14. Engler-Jastrzębska M, Musiał C, Kamm A. Metody niwelowania hiperpigmentacji skóry w świetle nowych doniesień naukowych. *Kosmetologia Estetyczna* 2019; 5: 553–560.
15. Kurek Górecka A, Balwierz R, Marciniak D, Dzierżewicz Z, Jasińska-Balwierz A, Sarecka-Hujar B, Kida D, Siemińska K. Zastosowanie kwasu azelainowego i azeloglicyny we współczesnej dermatologii i kosmologii. *Farmacja Polska* 2017; 73: 738–744.
16. Hollinger J, Angra K, Halder R. Are natural ingredients effective in the management of hyperpigmentation? *J Clin Aesthet Dermatol*. 2018; 11: 28–37.
17. Zasada M. Substancje biologiczne czynne stosowane w rozjaśnianiu hiperpigmentacji skóry. *Kosmetologia Estetyczna* 2016; 5: 467–473.
18. Berlitz JS, De Villa D, Inacio LAM, Davies S, Zatta KC, Guterres SS, Kulkamp-Guerreiro IC. Azelaic acid-loaded nanoemulsion with hyaluronic acid – new strategy to treat hyperpigmentary skin disorders. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2019; 45: 642–650.
19. Hermanns J, Petit L, Pierard-Franchimont C, Paquet P, Pierard G. Assessment of topical hypopigmenting agents on solar lentigines of Asian women. *Dermatology* 2002; 204: 281–286.
20. Parus A. Przeciwnutleniające i farmakologiczne właściwości kwasów fenolowych. *Postępy Fitoterapii* 2013; 1: 48–53.
21. Sadowska A, Kamm A. Sposoby zapobiegania i niwelowania hiperpigmentacji skóry twarzy w gabinecie kosmetycznym. *Kosmetologia Estetyczna* 2020; 4: 363–382.
22. Sarkar R, Arora P, Garg KV. Cosmeceuticals for hyperpigmentation: what is available? *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery* 2013; 6: 4–11.
23. Pablo J, Cazares C, Larraga-Pinones G, Ehnis-Perez A, Fuentes-Ahumada C, Oror-Ovalle C, Smoller B, Torres-Alvarez B. Topical niacinamide 4% and desonide 0.05 for treatment of axillary hyperpigmentation: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clinical, Cosmesmetic and Investigational Dermatology* 2013; 6: 29–36.
24. Pawlaczyk M, Korzeniowska K, Rokowska-Waluch A. Witamina C i skóra. *Farmacja współczesna* 2012; 5: 174–178.
25. Huh Ch, Seo K, Park J, Lim J, Eun H, Park K. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Vitamin C Iontophoresis in Melasma. *Dermatology* 2003; 206: 316–320.
26. Zhang R, Zhu W, Xie F, Ge X, Zhao H. Effect of hesperidin on B16 and HaCaT cell lines irradiated by narrowband-UVB light. *J Clin Dermatol*. 2008 (China).
27. Bora K, Jee-Young L, Ha-Yeon L, Ky-Youn-N, Jongil P, Su Min L, Jun Eun K, Joo Dong L, Jae Sung H. Hesperidin suppresses melanosome transport by blocking the interaction of Rab27A-melanophilin. *Biomolecules and Therapeutics* 2013; 21: 343–348.
28. Heun Joo L, Woo Jin L, Sung Eun C, Ga-Young L. Hesperidin, a popular antioxidant inhibits melanogenesis via ERK1/2 mediated MITF degradation. *International Journal of Molecular Sciences* 2015; 16: 18384–18395.
29. Zhu W, Gao J. The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* 2008; 13: 20–24.
30. Huang Y, Lee K, Huang Ch, Tsai Y, Wu P. The effect of component of cream for topical delivery of hesperetin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2010; 58: 611–614.
31. Usach I, Talens-Visconti R, Magraner-Pardo L, Peris J. Hesperetin induces melanin production in adult human epidermal melanocytes. *Food and Chemical Toxicology* 2015; 80: 80–84.
32. Lee SH, Choi SY, Kim H, Hwang JS, Lee BG, Gao JJ, Kim SY. Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull*. 2002; 25: 1045–1048.
33. Alvin G, Catambay N, Vergara A, Jamora M. A comparative study of the safety and efficacy of 75% mulberry (*Morus Alba*) extract oil versus placebo as a topical treatment for melasma: a randomized, single-blind, placebo-controlled trial. *J Drugs Dermatol*. 2011; 10: 1025–1031.
34. Taraz M, Niknam S, Ehsani AH. Tranexamic acid in treatment of melasma: A comprehensive review of clinical studies. *Dermatologic Therapy* 2017; 30: 1–8.
35. Amer M, Metwalli M. Topical liquiritin improves melasma. *International Journal of Dermatology* 2000; 39: 299–301.
36. Zubair S, Mujtaba G. Comparison of efficacy of topical 2% liquiritin, topical 4% liquiritin and topical 4% hydroquinone in the management of melasma. *Journal of Pakistan Association of Dermatologist* 2009; 19: 158–163.
37. Hermanns J, Petit L, Martalo O, Pierard-Franchimont C, Cauwenbergh G, Pierard G. Unraveling the patterns of subclinical pheomelanin – enriched facial hyperpigmentation: effect of depigmenting agents. *Dermatology* 2000; 201: 118–122.
38. Wallo W, Nebus J, Leyden J. Efficacy of soy moisturizer in photo-aging: a double-blind, vehicle-controlled, 12-week study. *J Drugs Dermatol*. 2007; 6: 917–922.
39. Calixto J, Otuki M, Santos A. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor kappa B (NF-kappaB). *Planta Med*. 2003; 69: 973–983.
40. Nofal A, Ibrahim A, Nofal E, Gamal N, Osman S. Topical silymarin versus hydroquinone in the treatment of melasma: A comparative study. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2019; 18: 263–270.
41. Babamiri K, Nassab R. Cosmeceuticals: The Evidence Behind the Retinoids. *Aesthetic Surgery Journal* 2010; 30: 74–77.
42. Griffiths C, Finkel L, Ditre C, Hamilton T, Ellis C, Voorhees J. Topical tretinoin (retinoid acid) improves melasma. A vehicle – controlled, clinical trial. *British Journal of Dermatology* 1993; 129: 415–421.
43. Herndon J, Lily J, Kononov T, Fox T. An Open Label Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Tolerance of a Retinol and Vitamin C Facial Regimen in Women With Mild-to-Moderate Hyperpigmentation and Photodamaged Facial Skin. *Journal of Drugs in Dermatology* 2016; 15: 476–482.
44. Farris P, Zeichner J, Berson D. Efficacy and Tolerability of a Skin Brightening/Anti-Aging Cosmeceutical Containing Retinol 0.5%, Niacinamide, Hexylresorcinol, and Resveratrol. *Journal of Drugs in Dermatology* 2016; 15: 863–868.
45. Tse TW. Hydroquinone for skin lightening: Safety profile, duration of use and when should we stop? *Journal of Dermatological Treatment* 2010; 21: 272–275.
46. Kim YC, Choi SY, Park EY. Anti-melanogenic effects of black, green, and white tea extracts on immortalized melanocytes. *The Journal of Veterinary Science* 2015; 16: 135–143.
47. Tetali S, Acharya S, Ankari A, Nanakram V, Raghavendra A. Metabolomics of *Withania somnifera* (L.) Dunal: Advances and applications. *J Ethnopharmacol* 2021; doi: 10.1016/j.jep.2020.113469.
48. Imokawa G, Ishida K. Inhibitors of Intracellular Signaling Pathways that Lead to Stimulated Epidermal Pigmentation: Perspective of Anti-Pigmenting Agents. *International Journal of Molecular Sciences* 2014; 15: 8293–8315.