

PEPTIDI V KOZMETIKI – SMOTRNOST NJIHOVE UPORABE

PEPTIDES IN COSMETICS – RELEVANCE OF THEIR USE

AVTOR / AUTHOR:

asist. Maja Bjelošević, mag. ind. farm.
prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.
doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: mirjam.gosenca.matjaz@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Kozmetična industrija se dandanes sooča s trendi, ki so vedno bolj usmerjeni k posamezniku in razvoju izdelkov z dodano vrednostjo. Tako smo priča razvoju kozmetičnih izdelkov (KI) z vgrajenimi biološkimi makromolekulami, kot so peptidi in proteini. Začetek uporabe peptidov in protei-

POVZETEK

Kozmetologija je dandanes ena najhitreje razvijajočih se znanstvenih področij. Posledično postaja razvoj kozmetičnih izdelkov vedno bolj inovativen ter usmerjen k posamezniku in njegovim potrebam oz. željam. Tako se soočamo z novimi trendi, ki vključujejo kozmetične izdelke z dodano vrednostjo, ter skladno z miselnostjo o industriji »brez odpadkov« (zero-waste) spreminjajo dosedanje nakupovalne navade potrošnikov. V ta pristop nedvoumno sodijo kozmetični izdelki na osnovi bioloških makromolekul, vključno s peptidi. V prispevku so predstavljene prednosti peptidov kot kozmetično aktivnih sestavin, hkrati z izzivi, ki jih predstavljata razvoj in vrednotenje učinkovitosti tovrstnih izdelkov. Skozi prispevek želimo odgovoriti na vprašanje o smotrnosti uporabe peptidov v aktivni negi, torej o delovanju v globljih plasteh kože, ter hkrati pojasniti njihove učinke na površini kože.

KLJUČNE BESEDE:

aktivna nega kože, bioaktivni peptidi, kozmetični izdelki, proteini sirotke

ABSTRACT

Nowadays, cosmetology and cosmetic products are one of the fastest-growing scientific areas, increasingly focused towards individuals' needs and preferences. Thus, we are facing with new trends that include cosmetic products with added value plus a zero-waste mentality which is changing current consumers' habits. Cosmetic products based on biological macromolecules, including peptides, can indisputably be enclosed within this field, representing the scope of this article. In the following review, new trends in the field of cosmetic products with incorporated peptides as cosmetically active ingredients are pointed out. Moreover, benefits as well as challenges in terms of development and efficiency of such products are critically depicted. Throughout the contribution, authors want to answer the question regarding relevance of using peptides in the active care as well as their effects on the skin surface.

KEY WORDS:

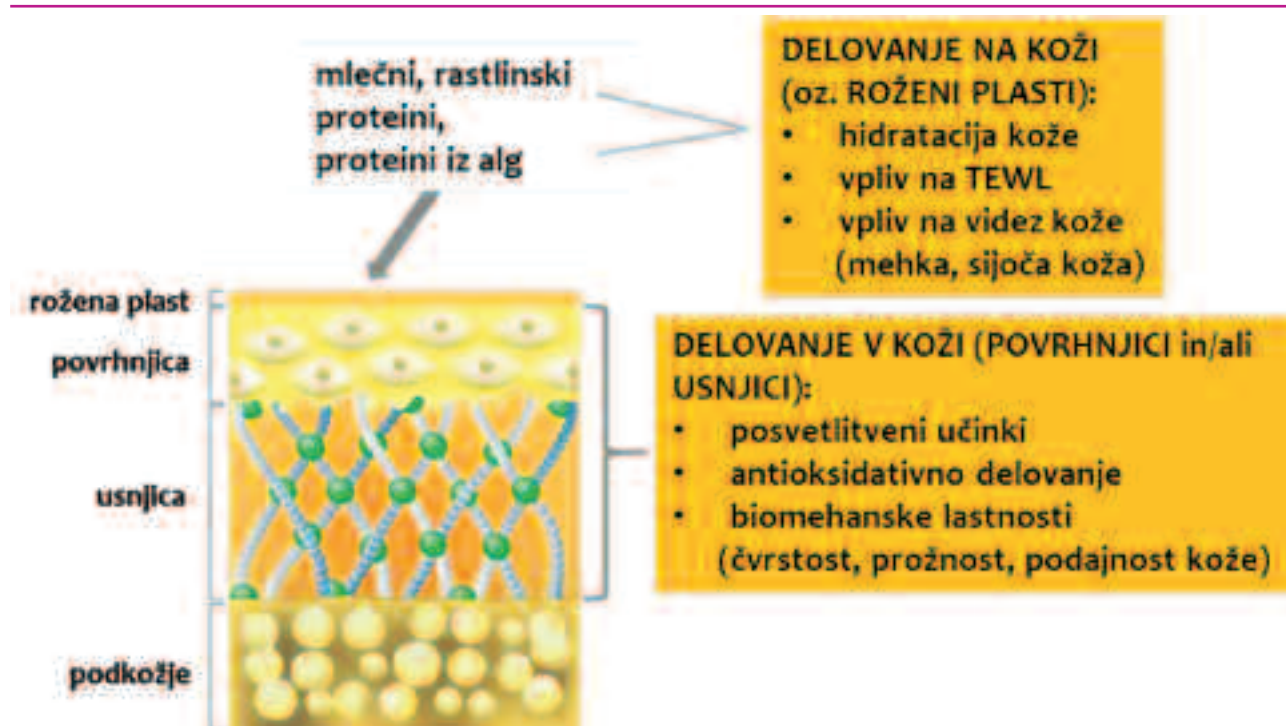
active skin care, bioactive peptides, cosmetic products, whey proteins



nov v kozmetične namene, predvsem za čiščenje in nego kože, sega že v obdobje pred našim štetjem. Znana je uporaba sojine moke za pripravo mask za obraz ali kamejljega in oslovega mleka za čiščenje kože in las. V začetku prejšnjega stoletja so prvič, čeprav nevede, peptide v izvlečku kvasovk uporabili za zdravljenje ran, kar je postavilo temelje njihovi današnji uporabi v aktivni negi kože (1).

Kljub začetnim pomislekom o smotrnosti uporabe peptidov in proteinov v KI so se uveljavili kot pomembna skupina kozmetično aktivnih sestavin (KAS). Učinki peptidnih in proteinskih molekul na kožo so raznovrstni, od vlažilnih, protimikrobnih do antioksidativnih in so odvisni predvsem od mesta njihovega delovanja. Nekateri komercialno dostopni kozmetično aktivni peptidi in njihovi mehanizmi delovanja so predstavljeni v preglednici 1. Dilema o meji med KI in zdravilom (dermatikom) je na področju kozmetologije stalnica in se pri izdelkih z vgrajenimi biološkimi molekulami samo še poglubi. Po strogi definiciji KI namreč ne sme izkazovati biološkega učinka, zato se je v primeru uporabe bioloških molekul kot KAS uveljavila uporaba izraza »kozmecevtik«. Kozmecevtiki so KI, namenjeni aktivni negi kože in imajo iz-

ražene klinične učinke na kožo, vplivajo namreč tako na njeno strukturo kot biološke funkcije in torej niso namenjeni zgolj lepšanju zunanjega videza kože oz. ohranjanju le-te v dobrem stanju, kot to velja za običajne KI. KI z vgrajenimi peptidnimi in proteinskimi KAS podpirajo tiste mehanizme in celice v koži, ki so odgovorni za antioksidativno delovanje, posvetlitvene učinke ter spodbujanje imunske zaščite kože, istočasno pa nadomeščajo naravno prisotne proteine, za kar je zahtevana penetracija in delovanje v globljih, živih plasteh kože (slika 1) (2). Poleg kozmecevtikov pomemben segment predstavljajo KI z vgrajenimi peptidnimi in proteinskimi molekulami, ki so primarno namenjeni delovanju na površini kože oz. v metabolno neaktivni roženi plasti (slika 1). V tem primeru izkoriščamo njihovo sposobnost vezave in zadrževanja vode v vrhnjih plasteh kože zaradi nastanka filma na površini kože. Posledično se zmanjša transepidermalna izguba vode, tj. pasivna izguba vode skozi intaktno roženo plast, kar pripomore k videzu mehke in gladke kože. Peptidne in proteinske molekule za uporabo v KI so bodisi pridobljene z biotehnološkimi postopki ali pa so živalskega, rastlinskega (vključno z algami) in glivnega izvora.



Slika 1. Shematski prikaz mesta vezave peptidov oz. proteinov ter njihovi učinki v in na koži. Prirejeno po: <https://www.ivforlife.com/8-key-vitamins-beautiful-skin-healthier/>.

Figure 1. Schematic representation of peptides/proteins binding site and their effects in and on the skin. Adapted after: <https://www.ivforlife.com/8-key-vitamins-beautiful-skin-healthier/>.

Peptide in proteine glede na izvor in delovanje razdelimo v naslednji skupini (slika 1):

- *peptidi in proteini, ki strukturno in funkcijsko posnemajo delovanje proteinov, naravno prisotnih v koži in laseh (kolagen, elastin);*
- *peptidi in proteini, ki niso fiziološko prisotni v koži in laseh, in jih v KI vgrajujemo zaradi specifičnih učinkov na kožo in lase (3).*

Omenjena delitev je sicer ohlapna, a predstavlja dobro osnovo za razumevanje delovanja človeku lastnih proteinskih molekul v primerjavi s proteini oz. peptidi rastlinskega in živalskega izvora, predvsem s stališča mesta delovanja, torej na ali v koži.

2 PROBLEMATIKA DERMALNE ABSORPCIJE PEPTIDOV

Proteini so makromolekule, sestavljene iz zaporedja 100 do nekaj 1000 aminokislin (6), medtem ko so peptidi

manjše molekule z do 100, po nekaterih definicijah pa celo zgolj do 20 aminokislinami. V kozmetiki najpogosteje uporabljamo peptide z do 7 aminokislinami, njihova molekulska masa pa praviloma ne presega 1000 Da (7, 8). Ustrezen obseg dermalne absorpcije KAS, natančneje prehod skozi kožno bariero, ki jo predstavlja predvsem rožena plast, je predpogoj za njihovo delovanje in posledično učinke v živih plasteh kože in je v prvi vrsti odvisen od fizikalno-kemijskih lastnosti KAS (9). Do penetracije v kožo lahko pride, če molekulska masa znaša manj kot 500 Da, porazdelitveni koeficient oktanol/voda je med 1 in 3, temperatura tališča pod 200 °C, topnost v vodi nad 1 mg/mL in molekula nima (preveč) polarnih centrov (2, 9).

Za biološke makromolekule sta problematični predvsem velikost in topnost. Tako ne preseneča, da na področju KI oz. kozmecevtikov večinoma uporabljajo peptide, katerih manjša molekulska masa pogojuje tudi optimalnejše lastnosti glede topnosti. V tem okviru je najbolj razširjen pristop uporaba hidroliziranih proteinov, pri čemer s hidrolizo peptidne vezi nastane več peptidnih fragmentov manjših molekularskih mas, ki lažje prehajajo skozi roženo plast kože

Preglednica 1. Pregled nekaterih komercialno dostopnih kozmetično aktivnih peptidov in njihovih mehanizmov delovanja (4, 5).

Table 1. Overview of some commercially available cosmetically active peptides and their mechanism of action (4, 5).

Peptid	Mehanizem delovanja	Podjetje
<i>Tripeptid-2</i>	Stimulacija ECM preko inhibicije metaloproteinaze	Atrium Biotechnologies
<i>Tripeptid-1</i>	Stimulacija ECM preko ravnega faktorja	Atrium Biotechnologies
<i>Acetilpeptid-1</i>	Stimulacija melanina preko regulacije melanocit-stimulirajočega hormona	Atrium Biotechnologies
<i>Nonapeptid-1</i>	Inhibicija tirozinaze	Atrium Biotechnologies
<i>Palmitoil heksapeptid-6</i>	Obnova kožne strukture	Grant Industries
<i>Oligopeptid-10</i>	Zaščita strukturne integritete kože	Grant Industries
<i>Tripeptid-1</i>	Inhibicija glikacije kolagena	Lipotec
<i>Tripeptid-10 citrulin</i>	Tvorba kolagenskih vlaken	Lipotec
<i>Acetiltetrapeptid-5</i>	Zmanjšanje edema preko inhibicije encima angiotenzin konvertaze	Lipotec
<i>Heksapeptid-10</i>	Stimulacija proliferacije celic	Lipotec
<i>Palmitoil tripeptid-5</i>	Stimulacija sinteze kolagena	Pentapharm
<i>Oligopeptid-20</i>	Inhibitor metaloproteinaz	Pentapharm
<i>GHK-baker</i>	Zdravljenje ran	Procyte
<i>Palmitoil oligopeptid</i>	Sinteza kolagena	Sederma
<i>Palmitoil tetrapeptid-7</i>	Elastičnost kože preko redukcije delovanja IL-6	Sederma
<i>Palmitoil pentapeptid-3</i>	Stimulacija sinteze kolagena	Sederma
<i>Palmitoil oligopeptid</i>	Stimulacija sinteze kolagena in hialuronske kisline	Sederma



(10, 11). Naslednji pristop je kemijska modifikacija peptidnih molekul, kot na primer tvorba konjugatov z maščobnimi kislinami za povečanje lipofilnosti, in posledično je večja penetracija (npr. palmitoil oligopeptid in acetil heksapeptid-3) (12). Prav tako so dokazali, da lahko s silikonizacijo ali tvorbo kvarternih amonijevih soli dosežemo prehod peptidnih fragmentov z molekulske maso do 2200 Da (3). Prehod skozi kožno bariero je pri zreli in suhi koži v povprečju lažji, saj so za ti stanji značilne tanjše plasti kože in prisotnost t. i. mikropoškodb (2). S tega vidika je ugodno, da so KI z vgrajenimi peptidi primarno namenjeni ravno za podporo in nego teh stanj kože.

3 BIOAKTIVNI PEPTIDI – ANALOGI KOLAGENA IN ELASTINA

3.1 SPREMEMBE V ZRELI KOŽI

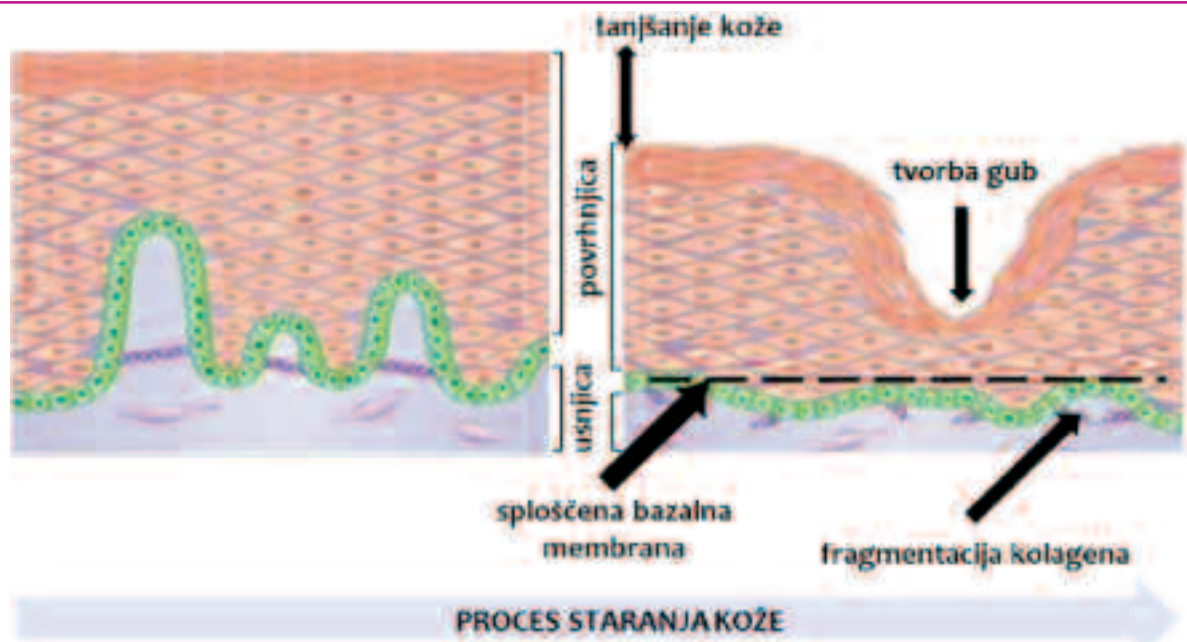
Koža se z leti spreminja, zunanji videz pa je tesno povezan z njeno specifično strukturo. Ker predstavlja primarno bariero med okoljem in notranjostjo organizma, prve znake staranja navadno najprej opazimo na koži. Vidne spremembe, značilne za zrelo kožo, kot so: groba/hrapava, suha, bledikava in ohlapna koža z bolj ali manj izrazitimi gubami in pigmentnimi lisami, so tesno povezane s strukturnimi in funkcijskimi spremembami, in sicer tanjšimi plastmi kože, povečano prepustnostjo, upočasnjenim celjenjem ran, pogostejšimi vnetji in povečano nagnjenostjo za nastanek kožnega raka. Naštete spremembe so skupek intrinzičnega (kronološkega) staranja kot naravnega procesa ter ekstrinzičnega staranja, kjer govorimo o pospešenem staranju zaradi izpostavljenosti kože zunanjim dejavnikom, predvsem ultravijoličnemu (UV) sevanju (od tu izraz fotostaranje kože) (13).

Staranje zajame vse plasti kože. Spremenijo se tekstura, navlaženost in barva povrhnjice (epidermisa), z napredujočim staranjem pa se izrazijo predvsem spremembe strukturne urejenosti spodaj ležeče usnjice (dermisa). Posledično postane koža neelastična, ohlapna, z vedno bolj izrazitimi gubami. Vezivno tkivo usnjice, ki daje koži osnovno strukturo in ustrezne mehanske lastnosti, v grobem tvorijo fibroblasti, obdani z zunajceličnim ogrodjem, ki ga tvori gosta mreža kolagenskih in elastinskih vlaken v glikoproteinskem gelu. Kolagen, družina proteinov z značilno strukturo trojne vijalice, je med tremi najbolj zastopanimi proteini našega telesa in tudi usnjice. Kolagenska vlakna so sestavljena zlasti

iz kolagena tipa I (80–85 %), ki je odgovoren za veliko natezno moč kože in s tem njeno čvrstost ter je tako ključen v procesu staranja, tipa III (10–15 %), ki prispeva k podajnosti kože, ter v manjšem deležu iz kolagena tipa V, ki skupaj z elastinskimi vlakni zagotavlja povrnitev kože v izhodiščno stanje po vsakem njenem premiku, raztežku. Strukturne in funkcionalne spremembe v procesu (foto)staranja so posledica številnih vzajemnih mehanizmov, ki vodijo do porušenega ravnotežja med sintezo in razgradnjo peptidov zunajceličnega ogrodja, kar se izrazi v vidnih znakih staranja (izrazite kožne linije in gube, povešena, mlahava koža). Na eni strani se zaradi zmanjšane števila fibroblastov in zmanjšanja njihove metabolne aktivnosti zmanjša sinteza sestavin zunajceličnega ogrodja, zlasti kolagena. Značilno upade razmerje med kolagenoma tipa I in III. Zaradi upada kolagena tipa IV oz. VII v bazalni membrani med povrhnjico in usnjico ta postane sploščena, kar oslabi njeno mehansko stabilnost in dodatno prispeva k nastanku gub (slika 2). Po drugi strani se poveča razgradnja zunajceličnega ogrodja, zlasti po dolgotrajnem ali ponavljajočem se izpostavljanju UV-sevanju (4, 14). Kapaciteta sistema antioksidantov v koži se izčrpa, presežek znotrajceličnih reaktivnih kisikovih spojin povzroča nenadzorovane reakcije oksidacije DNA, proteinov in drugih sestavin kože oz. aktivira signalne poti, ki vodijo v povečano izražanje metaloproteinaz, skupine Zn^{2+} vsebujočih proteolitčnih encimov, ki razgrajujejo proteine zunajceličnega ogrodja usnjice (15). Trodimenzionalna mreža vezivnih vlaken oslabi: kolagenska vlakna fragmentirajo, postajajo debelejša, bolj topna ter se začnejo združevati v nestrukturirane vrvičaste skupke. Prav tako se začnejo kopičiti odebeljena elastinska vlakna. Hkrati značilno upade tudi količina glikozaminoglikanov, zlasti hialuronske kisline, ki sicer vezana na kolagenska in elastinska vlakna zaradi velike sposobnosti za vezavo vode (njen volumen se lahko poveča celo do tisočkrat) daje ustrezen volumen usnjice in pripomore k videzu prožne, voljne, mladostne kože (14).

Zato se ob ostalih pristopih (npr. uporabi antioksidantov, retinoidov, polihidroksi kislin, hialuronske kisline ...) na področju aktivne nege (foto)starane kože vedno bolj uveljavljajo tudi peptidi in proteini, ki strukturno in funkcijsko posnemajo delovanje naravno prisotnih proteinov, zlasti kolagena in elastina.

Vedenje o delovanju peptidov kot KAS je v veliki meri doprinos raziskav celjenja ran, kjer so že v 30. letih prejšnjega stoletja opazili, da se rane hitreje celijo po nanosu ekstrakta fermentiranih kvasovk. Z razvojem znanosti so identificirali in potrdili, da so za to odgovorni krajši peptidi, ki spodbujajo angiogenezo in nastanek granulacijskega tkiva ter tudi sintezo kolagena (16). V letu 1973 so razvili prvi sintezni peptid



Slika 2. Značilne spremembe kože v procesu staranja. Prirejeno po: https://www.ascpskincare.com/content/members/Peptides_and_how_they_work.pdf.
 Figure 2. Distinctive alternations during skin aging. Adopted from: https://www.ascpskincare.com/content/members/Peptides_and_how_they_work.pdf.

za uporabo v KI, in sicer kompleks tripeptida glicil-histidil-lizin z bakrom, nato pa je na začetku 21. stoletja sledil preboj s palmitoil pentapeptidom 4, ki je odprl vrata drugim kratkoveržnim, stabilnim sinteznim peptidom (2). Govorimo o t. i. bioaktivnih peptidih, ki se vpletajo v fiziološke procese oz. signalne poti med celicami in tako izboljšajo stanje kože (15, 17).

Bioaktivne peptide glede na mehanizem delovanja razdelimo v tri skupine, in sicer: **(i)** peptide kot signalne molekule, **(ii)** peptide kot prenašalce ter **(iii)** peptide, ki zavirajo sproščanje živčnih prenašalcev (2, 17).

3.2 PEPTIDI KOT SIGNALNE MOLEKULE

Za **peptide kot signalne molekule** je značilno, da vplivajo na signalne poti celičnih procesov, značilnih za staranje. Spodbudijo sintezo ogrodnih proteinov, predvsem kolagena, v določeni meri tudi elastina. Hkrati se poveča proliferacija ostalih glikoproteinov usnjice (glikozaminoglikanov oz. proteoglikanov in fibronektina). Povečana sinteza kolagenskih in elastinskih vlaken ter glikoproteinov omogoča nastanek strukturiranega zunajceličnega ogrodja, kar pripomore k videzu mlajše, bolj čvrste kože (5). Aktivacija in proliferacija fibroblastov (in s tem povečana sinteza ogrod-

nih proteinov) je odziv na peptidne fragmente elastina in kolagena, t. i. matrikine, ki nastanejo po razgradnji zunajceličnega ogrodja (4). Primer signalnega peptida je peptidni fragment elastina, heksapeptid valil-glicil-valil-alanil-prolil-glicin (VGVAPG), ki spodbuja sintezo kolagena in hkrati zavira sintezo elastina. Deluje kemotaktično na fibroblaste, kjer se veže na membranske receptorje. Z namenom povečane penetracije v kožo uporabljamo ester s palmitinsko kislino (palmitoil oligopeptid) (17, 18). Naslednji primer je pentapeptid z aminokislinskim zaporedjem lizil-treonil-treonil-lizil-serin (KTTKS oz. derivat s palmitinsko kislino Matrixyl®), z zaporedjem, značilnim za prokolagen tipa I. Spodbudi nastajanje proteinov zunajceličnega ogrodja, zlasti kolagena tipov I in II ter fibronektina (2). Določeni signalni proteini delujejo po drugih mehanizmih, npr. derivat tripeptida lizin-fenilalanin-lizin s *trans* obliko oleinske kisline, ki je ključna za to, da spojina zavira delovanje kolagenaz, medtem ko je peptidna domena ključna za aktivacijo transformirajočega rastnega dejavnika β (TGF- β) (18).

3.3 PEPTIDI KOT PRENAŠALCI

Peptidi kot prenašalci omogočajo prenos in stabilizacijo oligoelementov, kot sta baker in mangan, potrebnih za ce-

ljenje in potek encimskih reakcij v kožnih celicah. Zlasti je pomembna njihova vloga za prenos bakra, ki ima pomembno vlogo pri celjenju ran in je kofaktor encimov lizil oksidaze, tirozinaze, superoksid dismutaze ter citokrom C-oksidaze, ki so ključni encimi pri sintezi kolagena in elastina, melanogenezi in endogenemu antioksidativnemu delovanju (18). Primer takšnega peptida je tripeptid glicil-histidil-lizin (GHK), ki tvori kompleks GHK-baker (lamin®). Je eden izmed najbolj proučevanih peptidov, zaporedje GHK je namreč značilno za proteine zunajceličnega ogrodja (npr. alfa verige kolagena), iz katerih se sprosti v primeru poškodb ali vnetja in podpira proces celjenja. Spodbuja razgradnjo velikih agregatov kolagena v brazgotinah, sintezo proteinov zunajceličnega ogrodja ter rast in migracijo celic, protivnetne in antioksidativne odzive in pravzaprav deluje kot signalni peptid. Načeloma velja, da je najbolj učinkovit v vlogi spodbujanja privzema bakra v celice, in sicer preko aktivacije omenjenih encimov, spodbujanja sinteza kolagena tipa I, proteoglikanov in glikozaminoglikanov ter povečanja aktivnosti tkivnih zaviralcev metaloproteinaz 1 in 2, kar prispeva k preoblikovanju strukture usnjice. Sposobnost kompleksa baker-GHK, da izboljša čvrstost in teksturo (foto)starane kože ter hkrati zmanjša obrazne gube in linije ter hiperpigmentacijo kože, so potrdili tako *in vitro* kot v kliničnih raziskavah (2, 5).

3.4 PEPTIDI, KI ZAVIRAJO SPROŠČANJE ŽIVČNIH PRENAŠALCEV

Preprečevanje krčenja oz. relaksacija mišic je še eden izmed pristopov za zmanjšanje finih linij kože in globokih gub. **Peptidi, ki zavirajo sproščanje živčnih prenašalcev**, posnemajo delovanje botulina, in sicer zavirajo sproščanje živčnega prenašalca v živčno-mišičnem stiku, s pomembno razliko, da delujejo po dermalnem nanosu in jih ni potrebno injicirati. Krčenje mišic zaradi sproščanja acetilholina in vezave na receptorje mišične celice nastopi po fuziji veziklov acetilholina s presinaptično membrano. Slednje vodi v spremembo membranskega potenciala in vdor Ca²⁺ ionov, začetek kaskade s fuzijo veziklov pa regulira kompleks proteinov SNARE (receptorski proteini SNAP na veziklu in membrani skupaj s sinataksinom). Sintezne peptidne molekule zavirajo nastanek proteinskega kompleksa in s tem sproščanje neurotransmiterja oz. krčenje mišic. Poleg vidnega učinka mehčanja linij in zmanjšanja gub se zmanjša tudi hrapavost kože. V to skupino uvrščamo acetilheksapeptid 3 (Argireline®), ki oponaša aminokislinsko za-

poredje proteina SNAP-25 (17, 19). V primeru s placebom kontrolirane raziskave, ki je potekala 30 dni na desetih prostovoljkah, je prišlo do bistvenega izboljšanja stanja gub in hrapavosti kože okrog oči po nanosu kreme (dvakrat dnevno) z vgrajenim acetil heksapeptidom. Potrdili so sinergistični učinek acetil heksapeptida 3 na zmanjšanje gub v kombinaciji s pentapeptidom-18 (Leupharyl®), ki zavira sproščanje kateholaminov in tako posnema delovanje enkefalinov. Zanimiv primer sta tudi pentapeptid-3 (Vialox®) in tripeptid-3 (SYN®-AKE), oba antagonist acetiholinkega receptorja na postsinaptični membrani. Učinkovitost tripeptida-3 za mehčanje obraznih linij in gub zaradi relaksacije mišic so potrdili v več študijah, tako na živalskih modelih kot na prostovoljcih (5, 18).

4 MLEČNI PROTEINI

Že iz zgodovine poznamo uporabo mleka v kozmetične namene, predvsem za doseganje videza negovane in gladke kože. Proteini v mleku oz. kot stranski produkt predelave mlečnih izdelkov obsegajo zelo široko skupino. So pogosta sestavina KI za nego las in lasišča, kjer proteini s tvorbo filma hidratirajo las na površini, medtem ko manjši peptidni fragmenti vlažijo jedro lasu, saj penetrirajo v lasno sredico. Prav tako vplivajo na obnovo celic lasnih foliklov ter tako oméjijo oz. preprečujejo prekomerno izpadanje las, posledično povečajo gostoto las ter njihovo debelino (zaradi hidratacije notranjih slojev lasu). Z uravnavanjem prekomernega izločanja sebuma preprečujejo tudi nastanek prhljaja. (3). Follicusan™ nemškega proizvajalca CLR je znan primer zaščitenih biološko aktivnih mlečnih proteinov za vgradnjo v KI (20).

Najobširnejšo skupino mlečnih proteinov predstavljajo kazeini. Znana je uporaba derivata s palmitinsko kislino v vlogi nosilca, ki izkazuje visoko sposobnost odstranjevanja nečistoč in ga uporabljamo v izdelkih za čiščenje kože in las. Zaradi inhibitornega učinka na bakterijske kolagenaze kazeini preprečujejo poškodbe dlesni, nastanek kariesa in zobne gnilobe ter so pomembna sestavina KI za ustno higieno (3).

Mlečni proteini učinkovito zavirajo iritacijo in izkazujejo sposobnost zmanjševanja rdečice kože preko delovanja na mediatorje vnetja. S tem pospešujejo obnovo kože po izpostavitvi zunanjim stresnim dejavnikom. Z inhibiranjem oz. uravnavanjem sinteze melanina v melanocitih (*in vitro* in *in*

vivo) vplivajo na pigmentacijo kože in izkazujejo posvetlitveni učinek. Mlečni proteini omejujejo tudi prezgodnje staranje kože, in sicer ugodno delujejo na debelino povrhnjice in stimulirajo celično komunikacijo med povrhnjico in usnjico. Tako izboljšajo teksturo kože, zaradi česar je smotrna uporaba v izdelkih proti staranju kože (3, 21).

4.1 SIROTKA IN PROTEINI SIROTKE

V skladu z idejo t. i. krožnega gospodarstva, kjer je cilj zagotoviti čim manj odpadkov, smo trenutno priča vse večji uporabi stranskega produkta predelave mleka – sirotke in proteinov sirotke za razvoj in izdelavo KI z dodano vrednostjo. Po predelavi mleka ima sirotka še vedno bogato proteinsko sestavo. Proteini sirotke so skupina topnih mlečnih proteinov, ki jih pridobimo z obarjanjem kazeinov z uravnavanjem pH mleka in obsegajo: β -laktoglobulin (48–58 %), α -laktalbumin (13–19 %), imunoglobuline (8–12 %), serumski albumin (5–6 %), laktoferin (2 %), laktoperoksidazo (0,5 %), glikomakropeptid (12–20 %), lizocim, laktofericin in citokine. Glede na delež proteinov tako ločimo več skupin sirotke, in sicer prašek sirotke z deležem proteinov do 15 %, koncentrat in izolat proteinov sirotke ter njuni hidrolizirani obliki, pri čemer slednji vsebujejo vsaj 80 % proteinov (12).

Če je bila do konca prejšnjega stoletja sirotka obravnavana kot odpadni material in je predstavljala veliko obremenitev za okolje, pa so napredki v tehnologijah separacije in čiščenja sirotki vrnili vrednost in uporabnost tako v prehranski kot tudi kozmetični nameni (22). Za kozmetične namene so uporabni neobdelani celotni proteini sirotke in tudi izolati hidroliziranih posameznih proteinov (22). Delež sirotke v formulaciji je odvisen od njene proteinske sestave oz. predvsem celokupnega deleža proteinov (23). Bioaktivni peptidi sirotke, pogosto v kombinaciji z vitamini, učinkovito spodbujajo sintezo kolagena in s tem preprečujejo oz. omejujejo učinke (foto)staranja kože, po podobnih mehanizmih, kot smo predstavili v poglavju 3.2 (24, 25). Med posameznimi proteini sirotke je znana uporaba hidrolizirane oblike laktoferina. Gre za glikoprotein iz družine transferinov, z molekularno maso 80 kDa, poznan tudi pod prvotnim imenom laktotransferin. Aminokislinska sestava laktoferina se razlikuje glede na izvor laktoferina, vendar načeloma velja, da ga tvori okrog 700 (690 do 703) aminokislin (26, 27). Delovanje laktoferina kot kozmetično aktivne sestavine obsega protimikrobno in protivnetno delovanje. Kot kelator železa, ki je esencialen element za rast in razmnoževanje bakterij, izkazuje bakteriostatične in baktericidne učinke (28, 29, 30). Hkrati laktoferin izkazuje visoko afiniteto do li-

popolisaharidov, kar posledično vodi do razgradnje zunanje membrane po Gramu negativnih bakterij, obenem pa vstopa v interakcijo tudi s komponentami celične stene po Gramu pozitivnih bakterij (26, 27). Zaradi enakega delovanja, kot ga izkazujejo kazeini, je tudi laktoferin pogosto sestavina KI za ustno higieno (30). Tudi ostali proteini sirotke izkazujejo številne ugodne učinke. β -Laktoglobulin poleg protimikrobnega učinka deluje na imunski sistem, pri čemer z vplivom na proliferacijo, aktivacijo in migracijo imunskih celic krepi imunske odzive, medtem ko albumin predstavlja bogat vir esencialnih aminokislin, njegova uporaba pa je zelo široka in dobro poznana (22). Tako kot večina predstavljenih proteinov je albumin prisoten v KI za čiščenje kože oz. las ter vlaženje kože (31). Znana je tudi uporaba lepotilnih mask in dekorativne kozmetike s sirotko in njenimi proteini, zaradi naravnega izvora in visoke čistosti pa jih uporabljamo tudi v KI za novorojenčke in otroke (3, 23). Pomembni so tudi kot pomožne snovi v KI, saj izkazujejo številne funkcionalne lastnosti, kot so sposobnost vezave vode, stabilizacija pene, sposobnost emulgiranja in geliranja (32).

5 PROTEINI IZ ALG

Morje ima izredno bogato biološko diverziteto, ki obsega številne mikroorganizme, živalske in rastlinske organizme ter plankton. Med naštetimi so danes v znanstveno-raziskovalnem okolju na področju kozmetologije v ospredju predvsem alge. Delovanje peptidov alg oz. njihovih ekstraktov na kožo obsega posvetlitvene, luščilne, antibakterijske in antioksidativne učinke, vpliv na regeneracijo kože, proliferacijo melanocitov in diferenciacijo keratinocitov. Dodatno pa v KI delujejo kot zgoščevala (povečajo viskoznost) in vlažila (vežejo vodo). Tako jih najdemo v emulzijskih sistemih, hidrogelih, šamponih, obraznih maskah, milih, tonikih, KI za zaščito pred soncem ter KI proti staranju in celo v dekorativni kozmetiki (33). Peptidni hidrolizati iz alg rodu *Porphyra*, *Spirulina* sp. in *Chlorella* sp. imajo dokazano sposobnost zadrževanja vlage v koži in ugodno delujejo na barierno funkcijo kože, kar se kaže tudi v nižani vrednosti transepidermalne izgube vode. Podoben učinek imajo tudi na lase, ki jim povečajo sijaj in gladkost ter spodbujajo njihovo obnovo (34). Peptidi, izolirani iz ekstrakta zelenih, rjavih in modrih alg, preko stimulacije sinteze kolagena in diferenciacije keratinocitov ter zaviranja delovanja metalo-



proteinaz zmanjšujejo nastajanje gub, doprinesejo k čvrstosti in elastičnosti kože ter s tem omejijo staranje kože zaradi fizioloških in okoljskih dejavnikov. Z inhibicijo delovanja encima tirozinaze omejujejo sintezo melanina in s tem hiperpigmentacijo kože (35, 36).

6 RASTLINSKI PROTEINI

Zaradi omejevanja uporabe sestavin živalskega izvora hidrolizirane oblike rastlinskih proteinov pridobivajo vse večji pomen. Med proteini rastlinskega izvora v kozmetiki najdemo peptidne fragmente ovsa, pšenice, soje, jojobe, avokada, mandljev, konoplje in sezama ter številne druge (37). V splošnem peptidi rastlinskega izvora izboljšajo hidratacijo kože in las ter zmanjšajo transepidermalno izgubo vode skozi roženo plast.

Hidrolizirani *proteini ovsa* imajo zaradi svoje specifične aminokislinske sestave zelo izrazite vlažilne lastnosti in jih pogosto dodajajo balzomom za lase z namenom ohranjanja obstoječe strukture las in obnavljanja poškodovanih las. Ugodne učinke so potrdili tudi po nanosu na kožo, kjer je kombinacija ovsenih proteinov in beta-glukana zmanjšala iritacijo in vnetje kože (38).

Sojini proteini prav tako sodijo v sklop široko uporabljenih proteinov tako na področju farmacije kot kozmetologije, predvsem zaradi bogate proteinske sestave in vsebnosti izoflavonov. Soja v povprečju vsebuje kar 40 % proteinov in 20 % lipidov. Hidrolizirane oblike sojinih proteinov spodbujajo procese obnove kože in izboljšajo njene mehanske lastnosti. Preko inhibicije kožnih elastaz, ki so odgovorne za razgradnjo elastinskih vlaken v usnjici, izboljšajo čvrstost kože, izoflavoni pa z zadrževanjem vlage v koži prispevajo k videzu napete kože; gube so tako manj izrazite. Z inhibiranjem tirozinaze tudi omejujejo sintezo melanina in s tem pojav hiperpigmentacije (3, 22).

Blagodejne učinke na kožo in lase izkazujejo tudi *mandljevi* in *pšenični proteini* v naravni in hidrolizirani obliki ter kot kopolimeri s polisiloksanom/polivinilpirolidonom. Slednji po nanosu blagodejno vplivajo na ohranjanje intercelularnih lipidov rožene plasti ter tako omejijo transepidermalno izgubo vode in s tem vzdržujejo barierno funkcijo kože. Pšenične proteine najdemo v različnih KI, kot so balzami in šamponi za lase, losjoni za nego kože po britju in izdelkih za čiščenje in nego kože. Mandljeve proteine uporabljamo predvsem za lajšanje iritacije kože in povečanje njene hi-

dratacije ter so tako primerni za suho in občutljivo kožo. Zaradi visoke afinitete do keratina so pogosto sestavina KI za nego las (3).

7 SKLEP

Pri sodobnem inovativnem razvoju kozmetičnih izdelkov imajo biološke makromolekule, kot so peptidi in proteini, velik potencial kot kozmetično aktivne sestavine. Cilj kozmetičnih izdelkov z vgrajenimi peptidnimi molekulami je prednostno aktivna nega, ki zaobjema penetracijo in delovanje v živih plasteh kože. Pri formuliranju je potrebno upoštevati omejitve, ki jih predstavlja koža, natančneje rožena plast, ki ovira prehod kozmetično aktivnih sestavin v globlje plasti kože. Za aktivno nego so zato primernejši manjši bioaktivni peptidi z do sedmimi aminokisljinami, zlasti analogi kolagena in elastina. Po drugi strani imajo peptidne in proteinske molekule tudi učinek vezave in zadrževanja vode v vrhnjih plasteh kože, kar neposredno vpliva na zunanji videz kože. Pričakovati je, da bo v skladu s skrbjo za okolje in zagotavljanjem čim manj odpadkov skupina kozmetičnih izdelkov z (bioaktivnimi) peptidi še pridobivala na pomenu. In čeprav sta dandanes razvoj in prodaja izdelkov z vgrajenimi peptidnimi molekulami v velikem razmahu, slednje ne zmanjša, temveč poveča nujnost nadaljnjih znanstvenih raziskav, predvsem z vidika vrednotenja učinkovitosti *in vivo* za peptide, katerih učinki še niso potrjeni, in s tem ni nedvoumne utemeljitve relevantnosti njihove uporabe.

8 LITERATURA

1. Kocbek P. Proteini, peptidi in rastni dejavniki v aktivni negi kože. In: Zvonar A, Kočevar Glavač N, editors. *Koža in sonce: kozmetično aktivne sestavine in izdelki za zaščito in aktivno nego kože*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo; 2012. p. 74-82.
2. Schagen SK. *Topical Peptide Treatments with effective Anti-Aging results*. *Cosmetics* 2017,4,16.
3. *Proteins and peptides for personal care*. In: Lad R, editor. *Biotechnology in personal care*. 1st ed. Florida: CRC Press; 2006. p. 57-79.
4. Zhang L, Falla TJ. *Cosmeceuticals and peptides*. *Clin Dermatol*. 2009; 27:485-94.

5. Gorouhi F, Maibach HI. Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *Int J Cosmet Sci.* 2009;31:327-45.
6. Boyer RF. Aminokislina, peptidi in proteini. In: Abram V et al., editors. *Temelji biokemije*. Ljubljana: Študentska založba; 2005. p. 69-94.
7. Lintner K. Peptides and proteins. In: *Draelos ZD. Cosmetic dermatology-products and procedures*. Wiley-Blackwell, 2010: 292-301.
8. Łubkowska B, Grobelna B, Maćkiewicz Z. The use of synthetic polypeptides in cosmetics. *Copernican letters.* 2010;1:75-82.
9. Gašperlin M. Transdermalna dostava zdravih učinkovin. *Farm. Vest.* 2006 May;57:100-105.
10. Secchi G. Role of protein in cosmetics. *Clin Dermatol.* 2008 Aug;26(4):321-5.
11. Sionato AV, Carrilho E, Tavares MF. Characterization of protein hydrolysates of cosmetic use by CE-MS. *J Sep Sci.* 2011 Apr;34(8):947-56.
12. Prokopowicz M, Różycki KM. Innovation in cosmetics. *World Sci News.* 2017 Apr;72:448-56.
13. Ramos-e-Silva M, Ribeiro Celestino L, Ramos-e-Silva S, Fucci-da-Costa AP. Anti-aging cosmetics: Facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2013;31:750-58.
14. Gosenca M. Koža – najpomembnejša dva kvadratna metra našega življenja. V: Kočevar Glavač N, Janeš D. (ured.): *Sodobna kozmetika : sestavine naravnega izvora. 1. izd. Velenje: Širimo dobro besedo, 2015. str. 17-32.*
15. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci* 2016;17,868.
16. Lupo MP, Cole AL. Cosmeceutical peptides. *Dermatol Ther.* 2007;20:343-349.
17. Lima TN, Moraes CAP. Bioactive Peptides: Application and Relevance for Cosmeceuticals. *Cosmetics* 2018;5,21.
18. el Hadmed HH, Castillo RF. Cosmeceuticals: peptides, proteins, and growth factors. *J Cosmet Dermatol.* 2016;15:514-19.
19. Fields K, Falla, TJ, Rodan K, Bush L. Bioactive peptides: signaling the future. *J Cosmet Dermatol.* 2008; 8:8-13.
20. CLR Berlin [Internet]. *Follicusan™* [update 2019 June; cited 2019 June 8]. Available from: <https://www.clr-berlin.com/>
21. Pharmacos [Internet]. *Lactokine™ fluid pf* [update 2019 June; cited 2019 June 7]. Available from: <https://www.pharmacos.in/product.php?id=315>
22. Luo Y, Wang T. Pharmaceutical and cosmetic applications of protein by-products. In: Singh Dhillon G, editor. *Protein Byproducts* [Internet]. Academic Press; 2016 [cited 2019 Jun 5]. Chapter 9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128023914000094>
23. Staples LC, inventor; Kroger Co; assignee. *Whey protein containing cosmetic formulations*. Canadian patent CA 1166576A. 1984 May 1 Available from: <https://patents.google.com/patent/CA1166576A/en>
24. Bartfay WJ, Davis MT, Medves JM, Lugowski S. Milk whey protein decreases oxygen free radical production in a murine model of chronic iron-overload cardiomyopathy. *Can J Cardiol.* 2003 Sep;19(10):1163-8.
25. Collins DF, Mammone T, Marenus KD, inventor; Color Access Inc; assignee. *Topical compositions containing whey proteins*. United States patent US 6203805B1. 2001 March 20 Available from: <https://patents.google.com/patent/US6203805B1/en>
26. Trybek G, Metlerski M, Szumilas K, Aniko-Włodarczyk M, Preuss O, Grocholewicz K, et al. The biological properties of lactoferrin. *Cent Eur J Sport Sci. Med.* 2016 Dec;3(15):25-35.
27. Rosa L, Cutone A, Lepanto MS, Paesano R, Valenti P. Lactoferrin: A Natural glycoprotein involved in iron and inflammatory homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2017 Jul;18(9): 1-26.
28. Ferrin-tech [Internet]. *Antiinflammatory activities of lactoferrin; 2017* [updated 2018 August 20; cited 2019 June 6]. Available from: <https://ferrin-tech.com/antiinflammatory-activities-of-lactoferrin/>
29. Hassoun LA, Sivamani RK. A systematic review of lactoferrin use in dermatology. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017 Nov;57(17):3632-9.
30. Wakabayashi H, Yamauchi K, Takase M. Lactoferrin research, technology and applications. *Int Dairy J.* 2006 Nov 1;16(11):1241-51.
31. Carter DC, inventor; New Century Pharmaceuticals Inc; assignee. *Serum albumin compositions for use in cleansing or dermatological products for skin or hair*. United States patent US 7829072B2. 2010 November 9 Available from: <https://patents.google.com/patent/US7829072B2/en>
32. Tavares TG, Malcata FX. *Whey and Whey Powders: Protein Concentrates and Fractions*. *Encyclopedia of Food and Health.* 2015 Sep;506-13.
33. Ariede MB, Candido TM, Jacome ALM, Velasco MVR, de Carvalho JCM, Baby AR. Cosmetic attributes of algae - A review. *Algal Res.* 2017 Jul;25:483-7.
34. Morone J, Alfeus A, Vasconcelos V, Martins R. Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals – A new bioactive approach. *Algal Res.* 2019 Aug.;41:1-9.
35. Sumathy B, Kim EK. Effect of marine cosmeceuticals on the pigmentation of skin. In: Kim SK, editor. *Marine cosmeceuticals: Trends and prospects*. 1st ed. Florida: CRC Press; 2011. p. 63-6.
36. Mega Sari D, Anwar E, Nurjanah N, Erwina Arifianti A. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitor Activities of Ethanol Extracts of Brown Seaweed (*Turbinaria conoides*) as Lightening Ingredient. *Pharmacogn J.* 2019 Feb;11:379-82.
37. *Cosmetic ingredient review* [Internet]. Safety assessment of plant-derived proteins and peptides as used in cosmetics; 2017 [update 2019 May; cited 2019 June 8]. Available from: <https://www.cir-safety.org/sites/default/files/pltpep062017tent.pdf>
38. The Herbarie [Internet] *Blending nature and science - Innovative natural products for cosmetics and toiletries: Hydrolyzed oats* [update 2019 June; cited 2018 June 6]. Available from: <https://www.theherbarie.com/Hydrolyzed-Oats.html>

