

STRESZCZENIE

Lipodystrofia, inaczej zwana cellulitem, jest powszechnym problemem dotykającym nawet ponad 80% żeńskiej części populacji. Postrzegana jest głównie jako defekt kosmetyczny, ale uważana bywa za pogorszenie stanu zdrowia, gdyż wpływa na stan psychiczny, powodując nawet znaczny dyskomfort i obniżenie jakości życia. Mechanizmy powstawania cellulitu są wieloetapowe, oparte na zwiększaniu się objętości adipocytów, nieprawidłowej przepuszczalności naczyń włosowatych i powstawaniu obrzęków. Etiopatogeneza jest złożona, wieloczynnikowa, toteż najbardziej efektywną może okazać się kompleksowa i wielotorowa terapia obejmująca zmianę stylu życia, odpowiednie zabiegi i pielęgnację domową. W preparatach stosowanych na skórę dotkniętą cellulitem stosuje się różne składniki czynne w tym ekstrakty roślinne o potencjalnym działaniu przeciwutleniającym, takie jak wyciągi z bluszczu pospolitego, paulini guarany, ruszczyka koleczastego, wąkroty azjatyckiej czy żeńszenia właściwego. Zawarte w nich antyoksydanty mogą działać przeciwzapalnie, przeciwmutagennie, ponadto wychwytyują i neutralizują wolne rodniki, chronią lipidy naskórka przed utlenianiem, uszczelniają naczynia krwionośne i usprawniają mikrokrążenie. Dodatkowo wspomagają organizm w radzeniu sobie ze skutkami upływu czasu, w tym np.: brakiem jędrności skóry, pogłębieniem degradacji kolagenu i uszkodzeniami tkanki łącznej. Przeciwutleniacze mogłyby więc znaleźć zastosowanie w terapii cellulitu i pielęgnacji skóry wpływając korzystnie na mikrokrążenie i eliminując skutki stresu oksydacyjnego w skórze właściwej i tkance podskórnej. Z uwagi na działanie lipolityczne w preparatach przeciwcellulitowych stosowana jest także czysta kofeina. Ponadto, niektóre olejki eteryczne, takie jak cytrynowy, geraniowy, grejpfrutowy czy pomarańczowy, mają działanie ujędrniające i pobudzające krążenie skórne, co może mieć znaczenie w zmniejszaniu omawianego defektu kosmetycznego. Obiecująca jest także możliwość jednoczesnego wykorzystania składowych preparatów redukujących cellulit w celu uzyskania ich synergistycznego działania. Mogą one wzmacniać przenikanie innych składników czynnych, co stwarza możliwość zwiększenia skuteczności stosowanych kosmetyków. Wiedza na temat wzajemnego działania synergistycznego lub antagonistycznego niektórych związków przeciwcellulitowych pozwoliłaby na ocenę słuszności i celowości jednoczesnego stosowania konkretnych związków w celu wzmocnienia efektu ich działania.

Celem pracy była ocena i porównanie aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów pozyskiwanych z pięciu wybranych roślin stosowanych w preparatach antycellulitowych

z wykorzystaniem czterech metod opartych na różnym mechanizmie działania oraz określenie przenikania kofeiny z różnych postaci kosmetyków w warunkach *in vitro*, przez sztuczne błony o charakterze hydro- i lipofilowym, w zależności od odczynu pH płynu akceptorowego.

Podjęto próbę oceny właściwości przeciwutleniających ekstraktów z suszonych liści bluszczu pospolitego, owoców paulini guarany, kłącza ruszczyka koleczastego, ziela wąkroty azjatyckiej oraz korzenia żeń-szenia właściwego. Do pozyskania wyciągów wykorzystano metodę ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami (w czasie 15, 30 lub 60 minut) oraz ekstrakcję wspomaganą wytrząsaniem (trwającą 180 minut). Jako ekstrahenty zastosowano trzy alkohole: etylowy, metylowy i izopropylowy w trzech ustalonych stężeniach. W ocenie potencjału antyoksydacyjnego wykorzystano metodę redukcji rodnika DPPH oraz rodnika ABTS, metodę oznaczenia zdolności redukcji jonów żelaza FRAP, a także oznaczenia całkowitej zawartości związków fenolowych metodą Folin-Ciocalteu. W drugiej części pracy oceniono przenikanie kofeiny z dwóch rodzajów preparatów – lipofilowej emulsji oraz hydrofilowego żelu – poprzez błony z octanu celulozy o charakterze hydrofilowym, a także przygotowane laboratoryjnie błony lipofilowe. Materiał do badań stanowiły preparaty kofeinowe bez dodatków oraz wzbogacone olejkami eterycznymi: cytrynowym, geraniowym, grejpfrutowym i pomarańczowym. Badanie prowadzono z zastosowaniem komory dyfuzyjnej Franz, a pobrany płyn akceptorowy analizowano z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Spośród przebadanych ekstraktów najwyższymi średnimi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowały się próby z guarany, najniższymi natomiast z ruszczyka koleczastego i żeń-szenia. Wyniki uzyskane z badania części ekstraktów z danej rośliny wykazywały się dużym rozrzutem, co sugeruje, że dobór odpowiednich warunków ekstrakcji, w tym metody oraz zastosowanego rozpuszczalnika do ekstrakcji tych roślin, oddziałuje na właściwości otrzymywanych wyciągów. Zaobserwowano, że stężenie alkoholu oraz rodzaj rozpuszczalnika mogą wpływać na wydajność ekstrakcji składników czynnych, gdyż zdecydowanie wyższe właściwości ekstraktów obserwowano zazwyczaj w przypadku prób sporządzonych przy użyciu rozcieńczonych rozpuszczalników – 70%(v/v), ale również 40%(v/v), w szczególności metanolu. Wyraźnie najniższe wartości w wielu przypadkach zaobserwowano dla ekstraktów w stężonym izopropanolu, który wydaje się być najmniej przydatnym rozpuszczalnikiem do otrzymania wyciągów o potencjale przeciwutleniającym. Sposób ekstrakcji miał również wpływ na badane właściwości ekstraktów. Zazwyczaj próby

otrzymywane przy pomocy wytrząsania lub godzinnej ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami wykazywały wyższe aktywności antyoksydacyjne.

Przenikanie kofeiny z podstawowych form hydrożelu i emulsji, ocenione w drugim etapie badania, różniło się od przenikania z preparatów wzbogaconych olejkami eterycznymi, zarówno w zakresie średniej oraz skumulowanej masy kofeiny w płynie akceptorowym po 240 minutach przenikania, jak i szybkości penetracji. Przedstawione wyniki sugerują wyraźnie wyższe przenikanie kofeiny z preparatów przez błony hydrofilowe. Związane jest to z hydrofilowym charakterem samego badanego związku. Ponadto, wyższe uwalnianie kofeiny zaobserwowano w przypadku naniesienia jej w formie hydrożelu na błony hydrofilowe, w porównaniu do błon lipofilowych, ale podobne obserwacje poczyniono dla emulsji naniesionej na błony lipofilowe w porównaniu do membran hydrofilowych. Istotne znaczenie ma dobór odpowiedniego składu podłoża preparatu do warunków i zakresu jego zastosowania na skórę. Część zastosowanych olejków w pewnych warunkach wpływała korzystnie na przenikanie kofeiny, co mogłoby umożliwić zastosowanie ich jako promotorów wchłaniania. Olejek cytrynowy wzmacniał przenikanie kofeiny z preparatów w formie hydrożelu przez błony do lekko kwaśnego środowiska jaki wykazują wierzchnie warstwy naskórka, a olejek geraniowy wpływał korzystnie na zwiększenie przenikania kofeiny z hydrożelu przez błony hydrofilowe oraz z emulsji przez błony lipofilowe. Podobną tendencję zaobserwowano dla olejku grejpfrutowego, podczas gdy olejek pomarańczowy wykazywał ułatwienie penetracji jedynie jako składnik emulsji naniesionej na błony lipidowe. Analizując szybkość przenikania badanego związku można stwierdzić, że jego największa ilość penetrowała do płynu akceptorowego w pierwszej fazie badania.

Podsumowując, wyciągi z owoców guarany, ziela wąkroty azjatyckiej oraz liści bluszczu pospolitego, otrzymane w wyniku trwającej przynajmniej 60 minut ekstrakcji w rozcieńczonych alkoholach, mogą być cennymi składnikami kosmetyków o działaniu przeciwutleniającym, istotnymi w redukcji cellulitu. Kofeina przenika skuteczniej z hydrożelu przez błony hydrofilowe w porównaniu z emulsją i błonami lipofilowymi, przy czym najbardziej korzystne wydaje się być połączenie jej z olejkiem cytrynowym i geraniowym w preparatach o charakterze żeli czy innych form wodnych w celu wzmocnienia jej przenikania przez wierzchnie warstwy naskórka, ale także głębsze warstwy skóry.

Uzyskane wyniki pozwalają na ocenę możliwości wykorzystania badanych ekstraktów w celu tworzenia preparatów o wielokierunkowym działaniu poprawiającym wygląd skóry z cellulitem.

ABSTRACT

Lipodystrophy, also known as cellulite, is a common problem that affects up to 80% of the female population. It is found mainly as a cosmetic defect, but sometimes it is considered a health deterioration as it affects the mental state, even leading to significant discomfort and decreasing the quality of life. The mechanisms of cellulite formation are multi-stage, based on the increase of the volume of adipocytes, abnormal capillary permeability, and the formation of edema. As the etiopathogenesis is complex, multifactorial, so the most effective seems to be a comprehensive and multifaceted therapy including lifestyle changes, appropriate treatments, and home skincare. Various active ingredients are used in products applied to cellulite-affected skin, including plant extracts with potential antioxidative effects, such as extracts of common ivy, guarana, butcher's broom, pennywort or ginseng. They may contain antioxidants of anti-inflammatory and anti-mutagenic properties, to capture and neutralize free radicals, protect epidermal lipids against oxidation, seal blood vessels and improve microcirculation. In addition, antioxidants support the body to decrease the unfavorable effects of the passage of time, including, for example, lack of skin firmness, deepening collagen degradation, and damages of connective tissue. Antioxidants could therefore be used in cellulite therapy and skincare, positively influencing microcirculation and eliminating the effects of oxidative stress in the dermis and subcutaneous tissue. Caffeine is also used in anti-cellulite preparations due to its lipolytic effect. In addition, some essential oils, such as lemon, geranium, grapefruit or orange oils, have a firming effect and stimulate skin circulation, which may be important in reducing this cosmetic defect. The possibility of simultaneous use of the reducing cellulite cosmetic products components to obtain their synergistic effect is also promising. They may enhance the penetration of other active ingredients to increase the effectiveness of the final cosmetics. Knowledge about the mutual synergistic or antagonistic effect of some anti-cellulite compounds would suggest the reasonableness and usefulness of the simultaneous use of specific substances to enhance their effect.

The study aimed to evaluate and compare the antioxidant activity of extracts obtained from five selected plants used in anti-cellulite treatment determined with four methods based on different mechanisms of action. Moreover, the penetration of caffeine from various forms of cosmetics *in vitro*, through artificial membranes of hydro- and lipophilic character, depending on the pH of the acceptor fluid was also evaluated.

The evaluation of the antioxidant properties of extracts from dried leaves of common ivy, guarana fruit, butcher's broom, pennywort herb, and ginseng root was carried out. The ultrasound-assisted extraction method (15, 30 or 60 minutes) and shaking-assisted extraction (180 minutes) were used to obtain the extracts. Three alcohols were used as extractants: ethanol, methanol as well as isopropanol, each of them at three fixed concentrations. The DPPH and ABTS radical reducing methods were used in the assessment of the antioxidant potential. The evaluation of the ability to reduce iron ions was performed using the FRAP method, and the total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu method. In the second part of the study, the penetration of caffeine from two types of preparations – a lipophilic emulsion and a hydrophilic gel – through the hydrophilic commercial membranes of cellulose acetate, as well as laboratory-prepared lipophilic membranes was evaluated. The studied formulations consisted of either caffeine without additives or enriched with essential oils: lemon, geranium, grapefruit, and orange. The penetration assessment was carried out using a Franz diffusion cell. The collected acceptor fluid was analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC).

In all the cases of the evaluation of antioxidant properties, the highest mean values were observed for the samples from guarana, while the lowest ones were for the butcher's broom and ginseng. The large scatter of results obtained from some extracts was observed, which suggests that the selection of appropriate extraction conditions, including the plant extraction method and the solvent used for the process, may affect the properties of the obtained extracts. The observed tendencies suggest that the alcohol concentration and the type of solvent may affect the extraction of active ingredients, as much higher properties of the extracts were usually observed in the samples prepared with diluted extractants – 70%(v/v), but also 40%(v/v), in particular with methanol. Significantly lower values in many cases were observed for extracts in concentrated isopropanol. This solvent seems to be the least useful extractant to obtain extracts with antioxidant potential. The extraction method and processing time also influenced the tested properties of the extracts. Typically, samples obtained by shaking or an hourly ultrasound assisted extraction showed higher antioxidant potential.

The evaluated in the second stage of the study penetration of caffeine from the basic forms of hydrogel and emulsions differed from the preparations enriched with essential oils, both in terms of the average and cumulative mass of caffeine in the acceptor fluid after 240 minutes of penetration as well as the penetration rate. The presented results suggest

significantly higher penetration of caffeine from preparations through hydrophilic membranes. This is due to the hydrophilic character of this compound itself. Moreover, higher caffeine permeation was observed when applied as in hydrogel to hydrophilic membranes compared to lipophilic membranes, but similar observations were made for emulsions applied to lipophilic membranes as compared to hydrophilic ones. Therefore, it is important to select the appropriate vehicle of the cosmetic formulation for the conditions and scope of its application to the skin. Some of the oils used, under certain conditions, had a positive effect on the penetration of caffeine, which makes it possible to use them as penetration enhancers. Lemon oil enhanced the penetration of caffeine from hydrogel preparations through the membranes into the slightly acidic environment as of the epidermis upper layers, and geranium oil had a positive effect to increase the penetration of caffeine from hydrogel through hydrophilic membranes and emulsions through lipophilic membranes. A similar tendency was observed for grapefruit essential oil, while orange oil showed penetration enhancement only as the component of an emulsion applied to lipophilic membranes. By analyzing the caffeine permeation rate it can be concluded that its greatest amount penetrated into the acceptor fluid in the first phase of the study.

In summary, the extracts of guarana fruit, pennywort herb, and common ivy leaves, obtained after extraction in diluted alcohols lasting at least 60 minutes, can be valuable ingredients in cosmetics with antioxidative properties, to be important in reducing cellulite. Caffeine penetrates more efficiently from the hydrogel through hydrophilic membranes compared to emulsions and lipophilic membranes. However, the addition of lemon and geranium oil seems to be the most beneficial in gel preparations or other aqueous cosmetic forms to enhance its penetration through the upper layers of the epidermis, as well as the deeper layers of the skin.

The obtained results may allow the assessment of the possibility to apply the tested extracts to elaborate preparations with a multidirectional effect to improve the condition of the skin with cellulite.