

Metody niwelowania hiperpigmentacji skóry w świetle nowych doniesień naukowych

Methods for reducing skin hyperpigmentation in the light of new scientific reports

WSTĘP

Na całym świecie istnieje duża różnorodność kolorów ludzkiej skóry. Klasyfikacja typów skóry Fitzpatricka utworzona w 1975 r. jest najczęściej stosowanym systemem do odróżniania fenotypów pigmentacji skóry. Zgodnie z nią, wyróżniamy 6 fototypów – od skóry bardzo jasnej po czarną [1, 2]. W tej zróżnicowanej gamie kolorów skóry stwierdza się wiele zaburzeń układu pigmentowego, mających istotny wpływ na obniżenie własnej wartości oraz jakości życia osób, u których pojawiają się zmiany skórne [3].

Skóra jednolita, nieskazitelna, bez zaburzeń pigmentacji powszechnie kojarzona jest ze zdrową skórą, powoduje to ciągłe pragnienie i dążenie do ujednolicenia koloru skóry [4]. Dlatego wciąż trwają badania nad nowymi, a jednocześnie bezpiecznymi metodami walki z zaburzeniami hiperpigmentacji, a także próby identyfikacji nowych związków i naturalnych ekstraktów mających zdolność hamowania hipermelanozy lub niwelowania już

istniejących przebarwień, a także wyjaśnianie ich mechanizmów działania [5].

Istnieje wiele znanych czynników stosowanych do niwelowania hiperpigmentacji skóry, zostały one wielokrotnie przebadane, a ich właściwości i działanie opisywano w wielu publikacjach.

W przeglądzie systematycznym opublikowanym w 2018 roku przeanalizowano badania kliniczne dotyczące naturalnych produktów stosowanych w leczeniu hiperpigmentacji, opisano składniki takie jak: kwas azelainowy, aloesyna, morwa, ekstrakt z lukrecji, peroksydaza ligninowa, kwas kojowy, niacynamid, kwas elagowy, arbutyna, zielona herbata, kurkuma, soja i kwas askorbinowy [6].

Znane są również badania nad skutecznością i bezpieczeństwem stosowania substancji mniej powszechnych, nie do końca poznanych, nad którymi wciąż trwają prace badawcze i które, według autorów tych badań, są obiecującą alternatywą w walce z hiperpigmentacją skóry.

Monika Engler-Jastrzębska¹
Claudia Musiał^{1,2}
Anna Kamm^{1,2}

¹ Wydział Fizjoterapii i Nauk o Zdrowiu
Wyższa Szkoła Zdrowia w Gdańsku
ul. Pelplińska 7
80-335 Gdańsk
E: anna.kamm@gumed.edu.pl

² Katedra i Zakład Chemii Medycznej
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Dębinki 1
80-211 Gdańsk

» 554

STRESZCZENIE

Zaburzenia pigmentacji skóry to powszechny problem mający duży wpływ na jakość życia oraz samoocenę. W pracy wskazano substancje od wielu lat stosowane w celu niwelowania zaburzeń hiperpigmentacyjnych, ale przede wszystkim przedstawiono nowe koncepcje terapii przebarwień.

Celem pracy było przedstawienie nowych doniesień naukowych dotyczących niwelowania zaburzeń hiperpigmentacyjnych oraz omówienie wybranych badań nad substancjami, które są obiecującą alternatywą w walce z przebarwieniami skóry.

Słowa kluczowe: zaburzenia hiperpigmentacyjne, hipermelanoza, zaburzenia barwnikowe, niwelowanie hiperpigmentacji skóry

ABSTRACT

Skin pigmentation disorders are a common problem with a great impact on quality of life and self-esteem. The paper indicates substances that have been used for many years to eliminate hyperpigmentation disorders, but above all new concepts for discoloration therapy are presented.

The aim of the study was to present new scientific reports on eliminating hyperpigmentation disorders and to discuss selected studies on substances that are a promising alternative in the fight against hypermelanosis.

Keywords: hyperpigmentation disorders, hypermelanosis, pigmentation disorders, reduction of skin hyperpigmentation

otrzymano / received

13.06.2019

poprawiono / corrected

30.06.2019

zaakceptowano / accepted

25.07.2019

W tabeli 1 przedstawiono substancje stosowane miejscowo, powszechnie wykorzystywane do niwelowania zaburzeń hiperpigmentacji skóry oraz mechanizm ich działania.

Tabela 1 *Substancje wykorzystywane do niwelowania zaburzeń hiperpigmentacji skóry w preparatach do stosowania miejscowego na skórę oraz mechanizm ich działania*

Składnik o działaniu depigmentacyjnym	Mechanizm depigmentacyjny
Kwas elagowy	Inhibitor tyrozynazy
Ekstrakt z soi	Hamowanie transferu melanosomów do keratynocytów
Kwas askorbinowy	Produkcja podtlenku azotu, antyoksydacja, inhibitor tyrozynazy, niwelowanie reaktywnych form tlenu
Amid kwasu nikotynowego	Hamowanie transportu melanosomów z melanosocytów do keratynocytów
Kwas kojowy	Inhibitor tyrozynazy
Aloesyna	Inhibitor tyrozynazy
Likwirytna (ekstrakt z lukrecji)	Rozpraszanie melaniny
Glabrydyna (ekstrakt z lukrecji)	Inhibitor tyrozynazy
Resweratrol	Inhibitor tyrozynazy
Peroksydaza ligninowa	Oksydaza i rozkład melaniny
Arbutyna	Inhibitor tyrozynazy
Nienasycone kwasy tłuszczowe: kwas oleinowy, kwas linolowy, kwas linolenowy	Inhibitor tyrozynazy
α-hydroksykwas / AHA (kwas migdałowy, mlekowy, glikolowy, jabłkowy, cytrynowy, winowy)	Degradacja melaniny i melanosomów, inhibitor tyrozynazy
β-hydroksykwas / BHA (kwas salicylowy)	Degradacja melaniny i melanosomów, inhibitor tyrozynazy
α-ketokwas (kwas pirogronowy)	Degradacja melaniny i melanosomów, inhibitor tyrozynazy
Polihydroksykwas / PHA (kwas laktobionowy, glukonolakton, glukoheptanolakton)	Degradacja melaniny i melanosomów, inhibitor tyrozynazy
Ekstrakt z suszonych liści morwy (<i>Morus alba</i>)	Inhibitor tyrozynazy, niwelowanie reaktywnych form tlenu, hamowanie melanogenezy
NCAP (N-acetylo-4-S-cysteaminylfenol) – analog tyrozyny, związek fenolowy	Inhibitor tyrozynazy
Piknogenol	Zmniejsza melanozę
Kwas cynamonowy	Inhibitor tyrozynazy
Umbeliferon / UMB (7-hydroksykumaryna)	Blokada światła ultrafioletowego
Hydroksyanizol	Inhibitor tyrozynazy
Retinol i retinoidy	Hamowanie dyspersji tyrozynazy, zakłócenie transferu pigmentu do keratynocytów, zagęszczenie warstwy rogowej, zmniejszenie zawartości melaniny
Peptydy – Oligopeptyd-68	Inhibitor tyrozynazy
Kwas azelainowy	Hamowanie mitochondrialnej oksydazy, inhibitor tyrozynazy
Sylimaryna	Działanie przeciwutleniające, fotoprotekcyjne. Zmniejsza stres oksydacyjny, zapalenie, obrzęk, rumień, uszkodzenie DNA i odpowiedzi immunologiczne. Zmniejsza produkcję melaniny poprzez działanie przeciwutleniające i hamowanie aktywności utleniania tyrozynazy przez L-dopę, zmniejsza ekspresję białka tyrozynazy

Źródło: *Opracowanie własne*

Badania naukowe na przestrzeni ostatnich dwóch lat dostarczyły istotnych informacji na temat działania substancji dotychczas mniej znanych i wykorzystywanych w procesie niwelowania hiperpigmentacji. Jak przedstawiono poniżej, mogą być skuteczne i bezpiecznie stosowane w walce z zaburzeniami pigmentacji skóry.

SYLIMARYNA

W ubiegłych latach poszukiwano między innymi inhibitorów melanogenezy z zasobów naturalnych i badano działanie hamujące sylimaryny na melanogenezę.

Sylimaryna jest naturalnym polifenolowym kompleksem flawonoidów pochodzących z rośliny ostropestu plamistego (*Silybum marianum*). W jej skład wchodzi kilka flawonolignanów, w tym: sylibiny, izosylibiny, silydianiny, silychrystyny i inne związki fenolowe. Wykazano, że sylibina, która jest głównym i najbardziej aktywnym biologicznie składnikiem sylimaryny, ma silne właściwości antyoksydacyjne. Posiada zdolność zmniejszania i niwelowania szkodliwych skutków promieniowania UV, zmniejsza stres oksydacyjny, hamuje powstawanie stanu zapalnego skóry oraz reakcji alergicznych powstających w wyniku kontaktu z promieniowaniem UV, zmniejsza również uszkodzenie DNA oraz ogranicza indukcję apoptozy [7].

Sylimaryna jest lekiem stosowanym w leczeniu chorób wątroby, ma działanie hepatoprotekcyjne. Posiada również właściwości przeciwzapalne i przeciwnowotworowe.

Sylimaryna znacząco zapobiega wytwarzaniu melaniny w sposób zależny od dawki, bez wpływu na żywotność komórek, nawet w wysokich dawkach nie wykazuje działań toksycznych [8-10].

Najnowsze badania opublikowane w lutym 2019 r. w *Journal of Cosmetic Dermatology* miały na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa działania miejscowej sylimaryny o różnych stężeniach (0,7% i 1,4%) w leczeniu melasmy. Wyniki porównywano z efektami uzyskanymi po zastosowaniu hydrochinonu, najpopularniejszego i najszerzej badanego leku stosowanego w leczeniu melasmy. W badaniu wzięły udział 42 dorosłe pacjentki z melasmą o różnym nasileniu, różnym rodzaju melanozy (naskórkowym, skórnym lub mieszanym) i różnym czasie jej trwania. Nasilenie melanozy u pacjentów podzielono według skali MASI na: łagodne (1-16), umiarkowane (> 16-32) i ciężkie (> 32-48) [9].

Skala MASI (*melasma area and severity index*) to skala ilościowa określająca nasilenie zmian. Ocenie podlega powierzchnia zmiany (P), kolor (K) i jednorodności hiperpigmentacji (J). Badania dokonuje się w obrębie czoła, prawego policzka, lewego policzka oraz brody [11].

Badania wykonano na trzech czternastoosobowych grupach, pacjenci z pierwszej grupy stosowali przez okres 3 miesięcy sylimarynę 0,7% krem dwa razy dziennie, pacjenci z drugiej grupy stosowali przez okres 3 miesięcy sylimarynę 1,4% krem dwa razy dziennie, pacjenci z trzeciej grupy stosowali przez okres 3 miesięcy 4% krem hydrochinonu jeden raz, na noc.

Receptura kremu z sylimaryną wyglądała następująco: kwas stearynowy 15 g, gliceryna 5 g, KOH 0,72 g, H₂O 79 g, benzo-
esau sodu 0,1% i Tween-80 1%. Sylimaryna została dodana jako 0,7% lub 1,4%. Odpowiedź terapeutyczną oceniano porównując
punktacją MASI oraz pomiar satysfakcji pacjenta, według skali od 0 (niezadowolony) do 3 (całkowicie zadowolony).

Po trzech miesiącach stosowania zalecanych preparatów, średnia procentowa redukcja wyniku MASI wśród badanych grup wyniosła:

- grupa pierwsza (sylimaryna 0,7% krem) – ok. 39,21%,
- grupa druga (sylimaryna 1,4% krem) – ok. 33,84%,
- grupa trzecia (4% krem hydrochinonu) – ok. 46,75%.

Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic dotyczących zadowolenia pacjentów:

- grupa pierwsza (sylimaryna 0,7% krem) – ok. 42,9%,
- grupa druga (sylimaryna 1,4% krem) – ok. 35,7%,
- grupa trzecia (4% krem hydrochinonu) – ok. 35,7%.

Ponadto warto dodać, że w grupie pacjentów stosujących hydrochinon, u 10 pacjentów zgłaszane były działania niepożądane, takie jak: rumień, uczucie palenia. Nawrót melanozy po 6 miesiącach obserwacji zaobserwowano u jednej osoby z grupy pierwszej, u jednej osoby z grupy drugiej i u trzech osób z grupy trzeciej [9].

Badania wykazały, że sylimaryna stosowana miejscowo w zaburzeniach hiperpigmentacji może być skuteczną, a przede wszystkim bezpieczną i nieinwazyjną, pozbawioną działań niepożądanych metodą w walce z hipermelanozą [9].

Skuteczność miejscowego działania sylimaryny badana była również w latach poprzednich i wyniki tych badań pokrywają się z przedstawionymi w pracy, autorzy również wskazali na znaczącą poprawę melanozy po leczeniu sylimaryną (7 i 14 mg/ml) [10, 12].

KWAS TRANEKSAMOWY

W ostatnich latach przedstawiono wyniki badań dotyczących skuteczności i bezpieczeństwa stosowania kwasu traneksamowego w leczeniu melazmy.

Melazma to hiperpigmentacja o wieloczynnikowym podłożu, jest to schorzenie o przewlekłym nawrotowym przebiegu. Wśród przyczyn wskazuje się między innymi: predyspozycje genetyczne, ekspozycję na promienie UV, zaburzenia hormonalne, predyspozycje etniczne [13].

Kwas traneksamowy (TA - *tranexamic acid*, kwas trans-4-aminometylocykloheksanokarboksylowy) jest syntetyczną pochodną lizyny, blokuje wiązanie plazminogenu do keratynocytów, co skutkuje zmniejszeniem wolnego kwasu arachidonowego oraz zmniejszeniem produkcji czynnika wzrostu prostaglandyn i fibroblastów. Wykazano, że zarówno prostaglandyny jak i czynnik wzrostu fibroblastów stymulują syntezę melaniny [14, 15].

W ubiegłych latach badacze zasugerowali, że kwas traneksamowy ma zdolność hamowania aktywności plazmin

w keratynocytach, zapobiegając tym samym wiązaniu plazminogenu z keratynocytami, co w konsekwencji zmniejsza melanogenezę w melanocycie [16].

Kwas traneksamowy to środek antyfibrolityczny, jest inhibitorem plazminy wykorzystywanym w celu zapobiegania nieprawidłowej fibrynolizie i zmniejszeniu utraty krwi. Stosowany jest u pacjentek z ciężkim krwawieniem miesięczkowym w dawce 1300 mg trzy razy dziennie (3900 mg/dobę) przez okres do 5 dni podczas miesiączki, u chorych na hemofilię podczas ekstrakcji zębów, dożylnie TA 10 mg/kg bezpośrednio przed operacją, a następnie 10 mg/kg trzy do czterech razy dziennie przez 2-8 dni. Dzięki właściwościom zakrzepowym znajduje zastosowanie również w położnictwie i ginekologii, chirurgii i urazach [16].

Przeciwwskazaniami do podawania leku są zaburzenia krzepnięcia lub choroba zakrzepowo-zatorowa w wywiadzie, należy również zachować ostrożność u osób stosujących doustnie środki antykoncepcyjne i inne środki prokoagulacyjne [17].

Autorzy badań wskazują na możliwość zastosowania kwasu traneksamowego przez różne drogi podawania, w tym drogę doustną, miejscową, śródskórną i mikroigłową [18].

W 2018 roku opublikowane zostały wyniki metaanalizy mającej na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa kwasu traneksamowego (TA) w leczeniu dorosłych z melazmą. Badania opisywały 21 kwalifikujących się prób, wyodrębnionych w wyniku przeszukania i analizy trzech baz danych oryginalnych badań:

- badanie PubMed – <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>,
- EMBASE – <https://www.embase.com>,
- Cochrane Library – <https://www.cochranelibrary.com> [19].

Do metaanalizy danych włączono badania opublikowane w latach 2006–2018, obejmowały one 16 badań RCT (*randomized controlled trial*), 3 badania kohortowe i 2 badania kliniczno-kontrolne. W 21 próbach, wzięło udział łącznie 1563 pacjentów z melazmą. Nasilenie osocza oceniano za pomocą MASI, MI (*melanin index*, wskaźnik melaniny) i EI (*erythema index*, wskaźnik rumienia) [18].

Badania włączone do metaanalizy musiały spełniać następujące kryteria:

1. Oryginalne badania (randomizowane badania kontrolowane-RCT), badania kohortowe i badania kliniczno-kontrolne) opisujące leczenie melazmy przy pomocy kwasu traneksamowego.
2. Stosowanie kwasu traneksamowego samodzielnie lub w połączeniu z innymi terapiami.
3. Wyniki badania opisujące jeden ze wskaźników w osoczu, takich jak wskaźnik obszaru melazmy i nasilenia (MASI), wskaźnik melaniny (MI) i wskaźnik rumienia (EI) [18].

W analizowanych badaniach kwas traneksamowy stosowany był zarówno doustnie, miejscowo jak i metodami fizycznymi. Dawkowanie w poszczególnych grupach przedstawiało się następująco:

- Doustna dawka dobowa – 500 mg lub 750 mg.
- Dawka wstrzyknięcia kwasu traneksamowego w obszar objęty melazmą wahała się od 2 do 8 mg lub wynosiła 0,2 mg/cm² na obszarze dotkniętym chorobą.
- Dawka miejscowa wynosiła 0,5%-5% kwasu traneksamowego i stosowana była w formie liposomów, emulsji / kremu, balsamu do skóry i kataplazmy [18].

Średni czas leczenia wynosił od 8 do 12 tygodni.

W 10 z 21 badań opisywano skutki uboczne związane z terapią kwasem traneksamowym. Najwięcej dolegliwości zaobserwowano u pacjentów stosujących TA doustnie, były to głównie problemy żołądkowo-jelitowe, takie jak: zgaga, nudności, ból brzucha i dyskomfort w nadbrzuszu, niektóre pacjentki zgłaszały zaburzenia miesiączkowania (oligomenorrhoea – rzadkie miesiączkowanie), hipopigmentację, pokrzywkę z obrzękiem naczynioruchowym, umiarkowane bóle mięśni, przemijający ból głowy, lęk i depresję. W przypadku miejscowej terapii odnotowano podrażnienie skóry i łuszczenie się skóry, a w przypadku iniekcji przemijający obrzęk i ból w miejscu wkłucia. We wszystkich grupach pojawiła się niewielka liczba przypadków rumienia [18].

Metaanaliza danych 1563 pacjentów w badaniach pojedynczego i adiuwantowego (uzupełniającego) kwasu traneksamowego wykazała znaczące zmniejszenie wyników MASI i MI, nie zaobserwowano jednak zmniejszenia wyniku EI. Analiza poszczególnych podgrup wskazuje na korzystne działanie ze znaczącym obniżeniem wyniku MASI samego kwasu traneksamowego stosowanego doustnie, miejscowo i w iniekcjach, a także jako uzupełniająca terapia doustna. Miejscowa aplikacja TA jako działanie adiuwantowe – TA nie wykazała istotnej różnicy w wyniku MASI w porównaniu ze standardowym leczeniem, ponieważ analizie podlegało tylko jedno badanie [18].

Wyniki metaanalizy wskazują, że kwas traneksamowy jest bezpiecznym i skutecznym lekiem dla pacjentów z melanozą, a skutki uboczne uznane zostały za minimalne. Należy jednak mieć na uwadze pewne ograniczenia tej metaanalizy, autorzy zwracają uwagę między innymi na różny czas obserwacji pacjentów, różne dawki oraz formy stosowania TA, wielkość próby i jakość badań. Stąd też sugerują, że wyniki są niewystarczające, aby sformułować jednoznaczne wnioski, wskazane są precyzyjniej zaprojektowane próby [18].

SERYCINA

Pod koniec 2018 roku opublikowano wyniki badań dotyczących wpływu serycyny ekstrahowanej mocznikiem na syntezę melaniny w przebiegu hiperpigmentacji skóry, szczególnie przebarwień pozapalnych oraz melazmy [20]. Serycyna jest białkiem jedwabiu syntetyzowanym i wydzielanym przez jedwabniki morwowe *Bombyx mori*.

Owady te znane są od wieków z produkcji naturalnych włókien jedwabiu, które składają się w większości z fibroiny (60-80%) i serycyny (15-35%), a zaledwie 1-5% to polisacharydy i woski.

Kokony jedwabiu stanowią doskonałe źródło fibroiny a także serycyny, która doskonale rozpuszcza się w wodzie [21, 22].

Dowodzono, że serycyna jedwabna, niegdyś uznawana za produkt odpadowy w produkcji włókien jedwabiu, wykazuje szereg właściwości biochemicznych, między innymi: przeciwutleniające, zmniejszające aktywność tyrozynazy, może być także wykorzystywana jako pożywka do namnażania komórek [23], wykazuje również wpływ na wytwarzanie kolagenu typu I w stopniu zależnym od stężenia. Zawartość metioniny i cysteiny w serycynie jedwabnej jest istotnym czynnikiem sprzyjającym wzrostowi komórek i syntezie kolagenu, dzięki czemu stała się ona obiecującym materiałem wykorzystywanym w gojeniu ran [24], znajduje również zastosowanie we wspomaganie procesów naprawczych kości [25].

Ważnym doniesieniem w kontekście zaburzeń hiperpigmentacji jest jej zdolność do zmniejszenia wytwarzania cytokin prozapalnych, w tym interleukiny IL-1 β , czynnika martwicy nowotworu TNF- α i tlenku azotu [26].

Istotne jest również, że serycyna jest inhibitorem aktywności tyrozynazy, która jest kluczowym regulatorem syntezy melaniny [22, 27].

W najnowszych badaniach opublikowanych pod koniec listopada 2018 roku skupiono się na czterech obszarach:

- wpływie serycyny na wytwarzanie chemokin CCL8 (CC chemokines), CCL18 i CXCL10 (CXC chemokines) przez komórki dendrytyczne po stymulacji alergicznej peptydoglikanem *Staphylococcus aureus* (PEG);

- działaniu tolerogennym serycyny;
- anty-melanogennym działaniu serycyny;
- właściwościach antytyrozynowych serycyny.

W badaniu wykorzystano modele indukcji alergii *in vitro* w pojedynczych komórkach, takich jak melanocyty i komórki dendrytyczne, a także w złożonych systemach komórkowych, czyli sztucznej skórze (MelanoDerm™).

Serycyna została wyodrębniona ze świeżych kokonów jedwabników *B. mori* przy użyciu mocznika. Ekstrakcja mocznikiem to jedna z bezpieczniejszych metod dających najwyższą aktywność antytyrozynową. Wykazano bowiem, że sposób ekstrakcji wpływa na aktywność biochemiczną protein jedwabiu. Różne metody, w tym obróbka ciepłem, kwasem, zasadą lub mocznikiem mogą zmieniać kompozycje aminokwasów, które mają istotny wpływ na aktywność przeciw tyrozynazie [20, 22].

Wyniki badań wykazały, że serycyna ekstrahowana mocznikiem ma działanie przeciwzapalne, działa hamująco na aktywność tyrozynazy, przeciw melanogenne na komórki barwnikowe, dendrytyczne oraz sztuczną skórę. Zaobserwowano hamujący wpływ serycyny na tyrozynazę, produkcję cytokin alergicznych i MITE, jednakże serycyna nie hamowała transportu melaniny między melanocytami i keratynocytami [20].

Udowodniono, że serycyna zmniejsza produkcję chemokin alergicznych, CCL8 i CCL18 oraz zwiększa produkcję cytokin przeciwzapalnych, IL-4, IL-10 i TGF- β , co zapewnia

zachowanie stanu tolerogenicznego poprzez modulowanie stopnia zapalenia i uzyskanie mniejszej syntezy melaniny [20]. Cytokiny przeciwzapalne pełnią kluczową rolę w zmniejszaniu stanu zapalnego i reakcji alergicznych w skórze, wpływają na złagodzenie przebarwień pozapalnych.

Podsumowując powyższe doniesienia można stwierdzić, że serycyna jest obiecującym naturalnym czynnikiem znajdującym zastosowanie w łagodzeniu hiperpigmentacji, zarówno pozapalnej, jak i melanozy [20].

NANOEMULSJA Z KWASEM AZELAINOWYM

W styczniu tego roku ukazały się badania opisujące nową strategię leczenia skórnych zaburzeń hiperpigmentacyjnych. Badacze opracowali nanoemulsję z kwasem azelainowym i kwasem hialuronowym, mającą zdolność wnikania do żywego naskórka i skóry właściwej oraz hamowania tyrozynazy, co w efekcie powstrzymuje syntezę melaniny i zmniejsza zmiany hiperpigmentacyjne [28].

Kwas azelainowy (AzA – *azelaic acid*) jest nasyconym 9-węglowym naturalnie występującym kwasem dikarboksylovym, pochodzącym z grzyba *Pityrosporum ovale*.

AzA zakłóca syntezę kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA – *deoxyribonucleic acid*), wpływa hamująco na mitochondrialną oksydoreduktazę, wykazuje również działanie hamujące tyrozynazę i zmniejszające postawanie wolnych rodników. Udowodniono, że kwas azelainowy precyzyjnie celuje w nieprawidłowe i nadaktywne komórki barwnikowe przy minimalnym wpływie na skórę otaczającą [29].

Posiada właściwości odbarwiająca, zmniejsza przebarwienia pozapalne, działa również przeciwzapalnie, przeciwbakteryjnie i komedolitycznie. Ze względu na brak działania teratogenicznego kwas azelainowy został sklasyfikowany przez FDA (*Food and Drug Administration*) jako dopuszczony do stosowania u kobiet w ciąży [30].

Nanoemulsje to substancje składające się z drobnych dyspersji oleju w wodzie, charakteryzują się kroplami wielkości od 100 do 600 nm, preparaty oparte na nanotechnologii pozwalają zwiększyć przenikanie leku, kontrolować jego uwalnianie i wydłużać okres trwałości w skórze [27, 31].

Zaprojektowana nanoemulsja typu olej w wodzie wskazana była do stosowania miejscowego i miała na celu lokalne działanie depigmentujące. Średnia wielkość cząstek nanoemulsji z kwasem azelainowym wynosiła 419 ± 23 nm, wartość pH była równa $5,01 \pm 0,01$, a zawartość kwasu azelainowego 10 mg/ml. Nanoemulsja była stabilna przez 30 dni ($30^\circ\text{C} / 65\% \text{RH}$) [27].

W związku z tym, że opracowana nanoemulsja miała niwelować zaburzenia hiperpigmentacji skóry, jako składnik depigmentujący zastosowano kwas azelainowy. Istotnym celem badań było wprowadzenie środka odbarwiającego do głębszych warstw naskórka aż do połączenia skórno-naskórkowego, gdzie znajdują się melanocyty. Wykazano, że kwas hialuronowy zastosowany jako adiuwant wpływa na wolniejsze i przedłużone przenikanie kwasu azelainowego w głąb skóry.

Autorzy udowodnili również, że kwas hialuronowy zwiększa zatrzymywanie w skórze środka depigmentującego i w ten sposób może poprawić skuteczność kwasu azelainowego w niwelowaniu hiperpigmentacji [27].

KWAS FERULOWY

W ubiegłym roku opublikowane zostały interesujące badania dotyczące między innymi aktywności wybielającej kwasu ferulowego i możliwości wykorzystania go w żywności funkcjonalnej o działaniu wybielającym. Znane są właściwości antyoksydacyjne i przeciwzapalne kwasu ferulowego, co mogłoby świadczyć o jego możliwym działaniu zapobiegającym pigmentacji [32-34].

Do badania wykorzystano kwas ferulowy wyizolowany z rośliny *Tetragonia tetragonoides*, a działanie wybielające badano przy użyciu mysich komórek czerniaka B16F10 stymulowanych α -MSH.

Udowodniono, że kwas ferulowy hamuje syntezę melaniny w sposób zależny od dawki, zastosowano kwas ferulowy w następujących dawkach: 5, 10 i 20 $\mu\text{g/ml}$, co spowodowało hamowanie produkcji melaniny o 13,9%, 25,5% i 43,6%.

Wykazano jednocześnie, że wewnątrzkomórkowa szybkość produkcji tyrozynazy przy zastosowaniu tego samego dawkania zmniejszyła odpowiednio o 4,7%, 11,8% i 19,1%.

Wyniki badań wskazują, że kwas ferulowy hamuje syntezę melaniny poprzez hamowanie ekspresji tyrozynazy i MITF przez co ma działanie wybielające [31]. Innowacją w badaniu kwasu ferulowego izolowanego z *T. tetragonoides* jest jego potencjał do stosowania w żywności funkcjonalnej.

ASTAKSANTYNA

Astaksantyna jest jednym ze składników zapobiegających powstawaniu hiperpigmentacji. Astaksantyna jest karotenoidem, terpenem lipofilowym posiadającym silne właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne. Jest metabolitem kantaksantyny i zeaksantyny. Chemicznie określana jest jako 3,3'-dihydroksy- β , β -karoten-4,4'-dion [35].

Ludzki organizm nie jest w stanie sam syntetyzować astaksantyny. Źródłami astaksantyny są mikroalgi, krewetki, kryl, raki, pstrąg oraz drożdże. Astaksantyna stosowana w formie doustnej lub miejscowej wykazuje działanie przeciwzmarszczkowe, podnosi poziom nawilżenia skóry, ujednolica koloryt, wspomaga niwelowanie zmian pigmentacyjnych, hamuje fotostarzenie oraz podnosi odporność skóry na poparzenia słoneczne [36]. Po raz pierwszy właściwości astaksantyny zostały wykorzystane w formie suplementacji doustnej w roku 1991 [37]. Późniejsze badania naukowe wykazały, że astaksantyna nie posiada charakteru prooksydacyjnego jak likopen i β -karoten. Najczęściej wykorzystywanym źródłem astaksantyny w suplementach diety i preparatach kosmetycznych jest alga *Haematococcus pluvialis* [38, 39].

Istnieje niewiele badań opisujących wpływ astaksantyny na skórę. Według badaczy, skutecznie zwalcza hiperpigmentację skóry (Yamashita, 1995) oraz wspiera ochronę skóry przed foto­starzeniem i hamuje syntezę melaniny (Arakane, 2002) poprzez zwalczanie reaktywnych form tlenu (ROS) - tlenu singletowego (O₂) - głównego utleniacza który jest wytwarzany przez promienie ultrafioletowe; wolnych rodników, stymulacji wzrostu stężenia antyoksydacyjnego glutationu, jak również ograniczeniu peroksydacji lipidów (wtórne lipidowe rodniki peroksydowe) [38, 39]. Ponadto suplementacja astaksantyną hamuje wydzielanie metaloproteinazy i cytokin zapalnych indukowanych przez promieniowanie ultrafioletowe B w keratynocytach [37].

Badanie kliniczne przeprowadzono na 65 zdrowych kobietach. Polegało na systematycznej suplementacji doustnej astaksantyny w dawce 6 mg, 12 mg oraz placebo przez okres 16 tygodni [37]. Przeprowadzono również badanie kliniczne polegające na zastosowaniu wewnętrznym i zewnętrznym astaksantyny pochodzącej z mikroalg *Haematococcus pluvialis* w celu określenia wpływu na stan skóry. Badanie pilotażowe z wykorzystaniem zastosowania miejscowego w formie kremu zawierającego astaksantynę wykazało widoczną redukcję zmarszczek oraz wzrost poziomu wilgotności po czterech tygodniach regularnego stosowania. W podwójnej ślepej próbie kontrolnej z wykorzystaniem suplementu diety zawierającego tokotrienol z oleju palmowego i astaksantynę, wykazano zmniejszenie plam pigmentacyjnych, poprawę wilgotności i elastyczności w czwartym tygodniu badania, i znaczne wygładzenie w drugim tygodniu badania. Suplement diety zawierał 2 mg astaksantyny oraz 40 mg tokotrienolu. Ponadto wyniki przeprowadzonych badań sugerują, że astaksantyna pochodząca z mikroalg *Haematococcus pluvialis* oprócz hamowania nadmiernej pigmentacji, pozwala na ochronę kolagenu przed uszkodzeniem wywołanym przez promieniowanie ultrafioletowe [40]. Istnieją również badania potwierdzające wzrost kolagenu typu I α1 (Col1A1) i podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF) po zastosowaniu astaksantyny [41].

Astaksantyna dzięki swoim cennym właściwościom, określana jest jako wewnętrzny „ekran przeciwśloneczny”. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że astaksantyna zwiększa swoistą ochronę przeciwśloneczną oraz zmniejsza uszkodzenia wywołane na skutek promieni ultrafioletowych dzięki właściwościom antyoksydacyjnym, jak również zmniejsza i ogranicza występowanie rumienia na skutek ekspozycji na promienie UV. Badanie przeprowadzone przez T. Lorenza wykonano w symulatorze promieniowania słonecznego. Niezależny eksperyment przeprowadzono na dwudziestu ochotnikach. Ochotnicy uprzednio zostali poddani badaniu, które miało na celu określenie jaka dawka promieniowania ultrafioletowego wywołuje rumień. Następnie przez okres dwóch tygodni badani przyjmowali doustnie astaksantynę o dawce 4 mg. Po upływie dwóch tygodni ponownie przeprowadzono test w wykorzystaniem urządzenia emitującego

promieniowanie ultrafioletowe. Wynik badania wykazał, że astaksantyna znacznie zwiększa odporność skóry na promieniowanie UV już po dwóch tygodniach doustnej suplementacji o dawce minimum 4 mg [42, 43].

ZIELONA HERBATA

Zielona herbata jest bogatym źródłem ochronnych polifenoli. Polifenole wykazują działanie chroniące skórę przed foto­starzeniem wywołanym promieniowaniem ultrafioletowym. Ponadto posiadają właściwości antymelanogenne, przeciw­zmarszczkowe, przeciwzapalne, zwalczają wolne rodniki oraz przeciwdziałają immunosupresji wywołanej przez promieniowanie UV. Przeprowadzone badania kliniczne wykazują wpływ polifenoli pochodzących z zielonej herbaty zawartych w preparatach kosmetycznych na zaburzenia pigmentacyjne takie jak piegę, plamy starcze i chloasma [44].

Zielona herbata posiada szereg polifenoli i katechin, które znajdują zastosowanie w preparatach kosmetycznych, jednym z nich jest galusan epigallokatechiny (EGCG). Galusan epigallokatechiny został poddany badaniu, mającemu na celu określenie mechanizmu, który wpływa na działanie antypigmentacyjne, antyoksydacyjne i nawilżające skórę człowieka. Badanie polegało na przeprowadzeniu testu proliferacji komórek, analizie Western blotting, przeprowadzono również próby za pomocą testu z wykorzystaniem rodnika DPPH (rodnik 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylowy), test lucyferazy oraz test reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR). Badania potwierdziły wysoką aktywność nawilżającą oraz przeciwutleniającą EGCG. Ponadto, wyniki testów wskazują na zmniejszenie wytwarzania melaniny po aplikacji miejscowej preparatu zawierającego EGCG [45].

WYCIĄG Z KURKUMY I LIŚCI GORZKIEGO MELONA

Ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe powoduje powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS). Produkcja reaktywnych form tlenu aktywuje jądrowy czynnik transkrypcji DNA, wyzwalając produkcję enzymu tyrozynazy, który z kolei przekształca jest w tyrozynę, a następnie w melaninę. Nadmiernej produkcji pigmentu w skórze można zapobiegać za pomocą związków syntetycznych jakimi są hydrochinon czy kwas kojowy, jednak użycie substancji syntetycznych często wiąże się z występowaniem skutków ubocznych. Ponadto, Mitsuo Miyazawa wskazuje, że stosowanie kwasu kojowego w zbyt wysokich stężeniach może uszkodzić skórę [46]. W przypadku hydrochinonu, badacze wskazują na skutki uboczne powstałe po zbyt długotrwałym stosowaniu substancji, takie jak ochronoza egzogenna czy kontaktowe zapalenie skóry [47]. W celu uniknięcia skutków ubocznych podczas stosowania preparatów niwelujących zmiany pigmentacyjne, badacze skupili się na znalezieniu substancji naturalnych dających zbliżone pozytywne rezultaty w redukcji hiperpigmentacji. Jednymi ze związków, które są inhibitorami produkcji melaniny są flawonoidy i kurkumina.

W 2018 roku opublikowano badanie, które wykazało zmniejszenie zawartości melaniny w warunkach *in vitro* po zastosowaniu liści gorzkiego melona i wyciągu z kurkumy [48]. Połączenie obu ekstraktów roślinnych wykazało lepsze działanie depigmentacyjne aniżeli zastosowanie pojedynczych ekstraktów. Badanie polegało na obserwacji melaniny w warstwie naskórka. Kombinacja antyhiperpigmentacyjna złożona z wyciągu z kurkumy i liści gorzkiego melona została przyrównana do kremu farmaceutycznego zawierającego w swoim składzie hydrochinon, tretynoinę i acetonid fluocynolonu. Test *in vitro* przeprowadzono na skórze świnki morskiej. Grupy kontrolne narażone były na promieniowanie ultrafioletowe B przez 2 minuty dziennie przez okres dwóch tygodni. W ostatnim etapie badania przeprowadzono biopsję skóry, natomiast badanie histopatologiczne przeprowadzono za pomocą barwienia Fontana-Masson i Nuclear Fast Red. Zawartość procentowa melaniny w określonym obszarze przeanalizowano za pomocą testu Kruskala Wallisa oraz Mann-Whitney. Przeprowadzone eksperymenty potwierdziły wyniki poprzedniego badania wykonanego przez Sugiharto i wsp., w którym udowodniono zdolność zmniejszania melaniny dzięki kurkuminie aż o ponad 45%. Ponadto ekstrakt z liści gorzkiego melona w przeprowadzonym eksperymencie w sposób znaczący zahamował aktywność tyrozynazy, również poziom melaniny w melanocytach B16-F10 został zmniejszony. W porównaniu do grupy kontrolnej, grupa skojarzona złożona z kurkuminy i ekstraktu z gorzkiego melona w sposób znaczący wykazała lepszy efekt depigmentacyjny oparty na zmniejszeniu średniego odsetka melaniny na powierzchni badanej. Pozytywne rezultaty antyhiperpigmentacyjne osiągnięte w przeprowadzonym badaniu mogą wynikać z połączenia flawonoidów, alkaloidów, terpenoidów, saponin, tanin oraz fenoli. Ponadto, ekstrakt etanolowy gorzkich liści melona bogaty jest w katechiny, kwas galusowy, witaminę C oraz polifenole [49, 50]. Substancje te wykazują również działanie przeciwutleniające oraz spełniają rolę ochronną dla komórek.

PODSUMOWANIE

Często występującą dolegliwością dermatologiczną, szczególnie nasiloną u pacjentów z wysokim fototypem skóry jest hipermelanoza. Od lat trwają badania nad skutecznością i bezpieczeństwem substancji niwelujących zaburzenia hiperpigmentacyjne. Wiele czynników znanych jest od wieków, lecz wciąż poszukiwane są nowe, efektywniejsze i bezpieczniejsze metody korygowania przebarwień. Dotyczy to zarówno substancji aplikowanych na skórę, wprowadzanych za pomocą mikroiniekcji, jak i preparatów doustnych, czy dodatków do żywności. Wyzwaniem dla klinicystów jest zarówno ustalenie prawidłowej diagnozy, jak i dobór skutecznych i optymalnych metod leczenia w celu zaspokojenia potrzeb pacjentów z uwzględnieniem zróżnicowanych fenotypów skóry.

LITERATURA

1. Del Bino S, Duval C, Bernerd F. Clinical and Biological Characterization of Skin Pigmentation Diversity and Its Consequences on UV Impact. *Int J Mol Sci.* 2018, vol. 19(9): 2668.
2. Dos Santos Videira IF, Lima Moura DF, Magina S. Mechanisms regulating melanogenesis. *An Bras Dermatol.* 2013 vol. 88(1): 76-83.
3. Ortonne JP, Bissett DL. Latest Insights into Skin Hyperpigmentation. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* 2008, vol. 13(1): 10-14.
4. Nomakhosi M, Heidi A. Natural options for management of melasma, a review. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* 2018, vol. 20: 7-8.
5. Napolitano A, Ito S. Skin Pigmentation: Is the Control of Melanogenesis a Target within Reach? *Int J Mol Sci.* 2018, vol. 19(12): 4040.
6. Jasmine C, Hollinger, Angra K, Halder RM. Are Natural Ingredients Effective in the Management of Hyperpigmentation? A Systematic Review *J Clin Aesthet Dermatol.* 2018, vol. 11(2): 28-37.
7. Kren V, Walterová D. Silybin and silymarin-new effects and applications. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2005, vol. 149(1): 29-41.
8. Choo SJ, Ryoo IJ, Kim YH, Xu GH, Kim WG, Kim KH, Moon SJ, Son ED, Bae K, Yoo ID. Silymarin inhibits melanin synthesis in melanocyte cells. *J Pharm Pharmacol.* 2009, vol. 61(5): 663-667.
9. Nofal A, Ibrahim AM, Nofal E, Gamal N, Osman S. Topical silymarin versus hydroquinone in the treatment of melasma: A comparative study. *J Cosmet Dermatol.* 2019, vol. 18(1): 263-270.
10. Altaei T. The treatment of melasma by silymarin cream. *BMC Dermatol.* 2012, vol. 2:12-18.
11. Samojedny A, Wilczyński S, Koniewicz K. Ocena zmian barwnikowych i metody ich usuwania. *Kosmetologia Estetyczna* 2013, vol. 2 (1): 23-27.
12. Elfar NN, El-Maghraby GM. Efficacy of Intra-dermal Injection of Tranexamic Acid, Topical Silymarin and Glycolic Acid Peeling in Treatment of Melasma: A Comparative Study. *J Clin Exp Dermatol Res* 2015, vol. 6: 3.
13. Engler-Jastrzębska M, Kamm A. Molekularne podstawy pigmentacji skóry. Etiologia i profilaktyka hiperpigmentacji. *Kosmetologia Estetyczna* 2019, vol. 8(3): 275.
14. Perper M, Eber AE, Fayne R, Verne SH, Magno RJ, Jessica Cervantes, Mana ALharbi, Ibrahim ALomair, Abdulkarem Alfuraih, Keyvan Nouri. Tranexamic Acid in the Treatment of Melasma: A Review of the Literature. *American Journal of Clinical Dermatology* 2017, vol. 18(3): 373-381.
15. Grimes PE, Ijaz S, Nashawati, Kwak D. New oral and topical approaches for the treatment of melasma. *Int J Womens Dermatol.* 2019, vol. 5(1): 30-36.
16. Tse TW, Hui E. Tranexamic acid: an important adjuvant in the treatment of melasma. *J Cosmet Dermatol.* 2013, vol. 12(1): 57-66.
17. Perper M, Eber AE, Fayne R, Verne SH, Magno RJ, Cervantes J, ALharbi M, ALOmair I, Alfuraih A, Nouri K. Tranexamic Acid in the Treatment of Melasma: A Review of the Literature. *American Journal of Clinical Dermatology* 2017, vol. 18(3): 373-381.
18. Taraz N, Niknam S, Ehsani AH. Tranexamic acid in treatment of melasma: A comprehensive review of clinical studies. *Dermatol Ther.* 2017, vol. 30(3).
19. Zhang L, Tan W-Q, Fang Q-Q, Zhao W-Y, Zhao Q-M, Gao J, Wang X-W. Tranexamic Acid for Adults with Melasma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BioMed Research International.* vol. 2018(1):1-13.
20. Aramwit P, Luptertlop N, Kanjanaputhipong T, Ampawong S. Effect of urea-extracted sericin on melanogenesis: potential applications in post-inflammatory hyperpigmentation. *Biol Res.* 2018, vol. 51(1): 54.
21. Grześkowiak J, Łochyńska M. Jedwabnik morwowo (Bombyx mori) - znany owad o nieznanym potencjale. *Wiadomości Zootechniczne, R.LV* 2017, vol. 1: 99-103.
22. Cao TT, Zhang YQ. Processing and characterization of silk sericin from Bombyx mori and its application in biomaterials and biomedicines. *Mat. Sci. Eng.* 2016, vol. C61: 940-951.
23. Aramwit P, Damrongsakkul S, Kanokpanont S, Srichana T. Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 2010, vol. 55(2): 91-98.
24. Aramwit P, Kanokpanont S, De-Eknamkul W, Kamei K, Srichana T. The effect of sericin with variable amino-acid content from different silk strains on the production of collagen and nitric oxide. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2009, vol. 20(9): 1295-1306. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2009; 20(9): 1295-306.
25. Nayak S, Dey T, Naskar D, Kundu SC. The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin. *Biomaterials.* 2013, vol. 34(12): 2855-2864.
26. Aramwit P, Kanokpanont S, De-Eknamkul W, Srichana T. Monitoring of inflammatory mediators induced by silk sericin. *J Biosci Bioeng.* 2009, vol. 107(5): 556-561.
27. Chlapanidas T, Faragò S, Lucconi G, Perteghella S, Galuzzi M, Mantelli M, Avanzini MA, Tosca MC, Marazzi M, Vigo D, Torre ML, Faustini M. Sericins exhibit ROS-scavenging, anti-tyrosinase, anti-elastase, and *in vitro* immunomodulatory activities. *Int J Biol Macromol.* 2013, vol. 58: 47-56.

28. Jacobus Berlitz S, De Villa D, Maschmann Inácio LA, Davies S, Zatta KC, Guterres SS, Külkamp-Guerreiro IC. Azelaic acid-loaded nanoemulsion with hyaluronic acid – a new strategy to treat hyperpigmentary skin disorders. *Drug Dev Ind Pharm.* 2019, vol. 45(4): 642-650.
29. Jasmine C, Hollinger, Kunal Angra, Rebat M, Halder. Are Natural Ingredients Effective in the Management of Hyperpigmentation? A Systematic Review. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2018, vol. 11(2): 28-37.
30. Chien AL, Qi J, Rainer B, Sachs DL, Helfrich YR. Treatment of Acne in Pregnancy. *J Am Board Fam Med.* 2016, vol. 29(2): 254-262.
31. Bouchemal K, Briançon S, Perrier E, Fessi H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *Int J Pharm.* 2004, vol. 280(1-2): 241-251.
32. Park H-J, Cho J-H, Hong S-H, Kim D-H, Jung H-Y, Kang I-K, Cho Y-J. Whitening and anti-wrinkle activities of ferulic acid isolated from *Tetragonia tetragonioides* in B16F10 melanoma and CCD-986sk fibroblast cells. *Journal of Natural Medicines* 2018, vol. 72(1): 127-135.
33. Nile SH, Ko EY, Kim DH, Keum YS. Screening of ferulic acid related compounds as inhibitors of xanthine oxidase and cyclooxygenase-2 with anti-inflammatory activity. *Rev Bras Farmacogn* 2016, vol. 26: 50-55.
34. Kanski J, Aksenova M, Stoyanova A, Butterfield DA. Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure-activity studies. *J Nutr Biochem* 2002, vol. 13: 273-281.
35. Lawson Ekpe, Kenneth Inaku, Victor Ekpe. Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases – a review. *Journal of Molecular Pathophysiology* 2018 vol. 7(1): 1-6, 10.
36. Tominaga K, Hongo N, Karato M, Yamashita E. Cosmetic benefits of astaxanthin on humans subjects. *Acta ABP Biochimica Polonica* 2012, vol. 59(1): 43-47.
37. Matsuno T. Xanthophylls as precursors of retinoids. *Pure Appl Chem* 1991, vol. 63: 81-88.
38. Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. *Nutrients.* 2018, vol. 10(4): 522.
39. Kumi Tominaga, Nobuko Hongo, Mayuko Fujishita, Yu Takahashi, Yuki Adachi. Protective effects of astaxanthin on skin deterioration. *J Clin Biochem Nutr.* 2017, vol. 61(1): 33-39.
40. Yamashita, E. Anti-photoaging by astaxanthin for skin. *Anti-Aging Therapeutics* 2009: 409-421.
41. Meephansan J, Rungjang A, Yingmema W, Deenonpoe R, Ponnikorn S. Effect of astaxanthin on cutaneous wound healing. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2017, vol. 10: 259-265.
42. Lorenz RT. 2002a. Method for retarding and ameliorating fever blisters and canker sores. U.S. Patent No. 6,344,214.
43. Lorenz RT. 2002b. Method for retarding and preventing sunburn by UV light. U.S. Patent No. 6,433,025.
44. Roh E, Kim JE, Kwon JY, Park JS, Bode AM, Dong Z, Lee KW. Molecular mechanisms of green tea polyphenols with protective effects against skin photoaging. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017, vol. 57(8):1631-1637.
45. Kim E, Hwang K, Lee J, Han SY, Kim E-M, Park J, Cho JY. Skin Protective Effect of Epigallocatechin Gallate. *Int J Mol Sci.* 2018, vol. 19(1): 173.
46. Miyazawa M. Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonium hydropiper* L. (Benitade), *Biology Pharmaceutical Bulletin.* 2007, vol. 30: 595-597.
47. Momtaz S, Mapunya BM, Houghton PJ, Edgerly C, Hussein A, Naidoo S, Lall N. Tyrosinase inhibition by extracts and constituents of *Sideroxylon inerme* L. stem bark, used in South Africa for skin lightening. *Journal of Ethnopharmacology* 2008, vol. 119: 507-512.
48. Fithria RF, Anas Y, Safitri EI. Antihyperpigmentation Effect of The Combination of Turmeric (*Curcuma domestica* Val.) and Bitter Melon Leaves (*Momordica Charantia* L.) Ethanol Extracts on Guinea Pig Skin. *Jurnal Kefarmasian Indonesia* 2018, vol.8 (1): 10-16.
49. Dutta B. Study of secondary metabolite constituents and curcumin contents of six different species of genus *Curcuma*. *Journal of Medicinal Plants* 2015, vol. 3(5): 116-119.
50. Zhang M, Hettiarachchy NS, Horax R, Chen P, Over KF. Effect of maturity stages and drying methods on the retention of selected nutrients and phytochemicals in bitter melon (*Momordica charantia*) leaf. *Journal of food science* 2009, vol. 74(6): 441-448.