

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

PETRA GOBEC

**OCENA VARNE UPORABE SESTAVIN ZA POSVETLITEV
KOŽE V KOZMETIČNIH IZDELKIH, PRISOTNIH NA
SLOVENSKEM TRŽIŠČU**

MAGISTRSKA NALOGA

**EVALUATION OF THE SAFE USE OF SKIN LIGHTENING
INGREDIENTS IN COSMETIC PRODUCTS AVAILABLE ON
THE SLOVENIAN MARKET**

MASTER'S THESIS

Ljubljana, 2017

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm.

Zahvala

Za pomoč pri pisanju diplomske naloge bi se rada zahvalila mentorici prof. dr. Mariji Sollner Dolenc, mag. farm., ki me je usmerjala in mi pomagala pri delu. Hvala tudi moji družini, ki mi je med študijem ves čas stala ob strani, me podpirala, spodbujala in verjela vame.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm..

Petra Gobec

Ljubljana, 2017

Kazalo vsebine

1. Uvod.....	1
1.1. Koža.....	1
1.1.1. Pigment.....	2
1.1.2. Melanogeneza.....	2
1.2. Motnje v pigmentaciji kože.....	3
1.2.1. Hipopigmentacije.....	3
1.2.2. Hiperpigmentacije.....	4
1.3.1. Zaviranje produkcije in porazdelitve melanina.....	6
1.3.2. Protivnetni in antioksidativni učinki spojin za zaviranje hiperpigmentacije.....	7
1.3.3. Uporaba rastlinskih učinkovin kot preventiva pred hiperpigmentacijo.....	8
1.4. Učinkovine za posvetlitev kože/zaviranje hiperpigmentacije.....	8
1.4.1. Novejše učinkovine in izvlečki rastlin za posvetlitev kože.....	9
1.4.2. Tradicionalne učinkovine za posvetlitev kože.....	10
1.4.3. Antioksidanti.....	12
1.5. Varnost kozmetičnih izdelkov.....	14
1.5.1. Kozmetični izdelek.....	14
1.5.2. Poročilo o varnosti KI.....	14
2. Namen dela.....	16
3. Materiali in metode.....	17
3.1. Izbor kozmetičnih izdelkov.....	17
3.2. Način pridobivanja podatkov.....	17
3.3.1. Toksikološki profil.....	18
4. Rezultati in razprava.....	19
4.1. Toksikološki profil KAS za posvetlitev kože.....	23
4.1.1. Tokoferol in derivati.....	23
4.2. Askorbinska kislina in njeni derivati.....	26
4.2.2. Etri in estri askorbinske kisline.....	29
4.3. Alfa hidroksi kisline – mlečna in citronska kislina.....	33
4.4. Niacinamid.....	36
4.5. Ekstrakt golostebelnega sladkega korena (<i>Licorice extract</i>).....	38
4.6. Resorcinol.....	40
4.7. Ocena varnosti pregledanih KAS za posvetlitev kože.....	48
5. Sklep.....	53

6. Literatura.....	55
--------------------	----

Povzetek

Koža je največji človeški organ. Poleg vseh funkcij, ki jih ima, nas tudi vizualno predstavlja svetu. Nepravilnosti, ki se pojavljajo na koži, so zato tegoba velikega števila ljudi. Ena od kožnih nepravilnosti so hiperpigmentacije. Pojavljajo se tako pri mladih kot pri starejših ljudeh. Za njo so značilni pigmentni madeži, lise in pege. Kozmetični izdelki (KI) za posvetlitev kože predstavljajo eno izmed rešitev za kožo s pretirano pigmentacijo. Ti izdelki vsebujejo kozmetično aktivne sestavine, ki na različne načine zavirajo pigmentacijo.

V magistrski nalogi smo poiskali in pregledali kozmetične izdelke za posvetlitev kože, ki so prisotni na slovenskem tržišču. Izdelkom smo pregledali sestavine in določili, katere kozmetično aktivne sestavine posvetlijo kožo. Izmed vseh sestavin, ki posvetlijo kožo, smo jih izbrali šest, ki so se najpogosteje pojavljale v izdelkih. Te sestavine smo podrobneje pogledali in ovrednotili. Kozmetično aktivne sestavine (KAS) za posvetlitev kože se pojavljajo v izdelkih za posvetlitev kože, izdelkih za zaščito pred soncem in v kremah proti staranju kože.

Po pregledu priloge II kozmetične uredbe 1223/2009 smo ugotovili, da se v kozmetičnih izdelkih pojavljajo le dovoljene sestavine za posvetlitev kože. Pregledali smo 51 kozmetičnih izdelkov, v katerih je bilo 51 različnih kozmetično aktivnih sestavin za posvetlitev kože. Med aktivnimi sestavinami je prisotnih 86.3 % antioksidantov in veliko rastlinskih ekstraktov, 35.3 %. Najpogosteje uporabljeni aktivni sestavini so tokoferol in njegovi derivati, prisotni so v 18.7 % KI, askorbinski kislini in njenim derivatom, pa pripada 16.4 % KI. Povprečno je v pregledanih KI 3.3 KAS za posvetlitev kože. Po pregledu toksikoloških profilov lahko rečemo, da je izmed pregledanih KAS najbolj varen ekstrakt golostebelnega korena, najmanj varen pa resorcinol.

Ključne besede: hiperpigmentacija, posvetlitev kože, varnost uporabe

Abstract

Skin is our largest organ - it has a lot of functions, but it also serves as our visual representation to the outside world. These days our look is very important and because of that different skin imperfections can be very unpleasant or even disturbing. One of the skin imperfections is hyperpigmentation. It can appear not only the skin of older but also younger people. Hyperpigmentation is characterized by pigment stains, spots and freckles. Solution for this problem are cosmetic products for skin luminosity. These products contain cosmetically active ingredients that inhibit pigmentation in various ways.

In master's thesis we examined cosmetic products for skin luminosity that are present on the Slovenian market. We examined cosmetic ingredients with skin lightening function. Among those ingredients we examined and evaluated safety of six ingredients that were most commonly found in the examined cosmetic products. Ingredients with the lightening function are mostly found in cosmetic products for skin luminosity, but we can also find them in sunscreen products and in anti-aging creams.

After reviewing Annex II of the Cosmetic Regulation 1223/2009, we determined that all examined cosmetic products contain only permitted cosmetic active ingredients with a brightening function. We examined 51 cosmetic products containing 51 different cosmetic active ingredients for skin luminosity. Among those active ingredients there are 86.3 % antioxidants and 35.3 % of plant extracts. The most used active ingredients are tocopherol and its derivatives which are present in 18.7 % of the examined cosmetic products and ascorbic acid and its derivatives which are present in 16.4 % of the examined cosmetic products. On average, 3.2 cosmetic active ingredients were found in the examined cosmetic products. After the examination of toxicological profiles of the examined cosmetic active ingredients for skin luminosity, we can say that the safest ingredient is licorice root extract and the least safe is resorcinol.

Key words: hyperpigmentation, skin lightening, safety use

Seznam okrajšav

AA – askorbinska kislina

ADI – sprejemljiv dnevni vnos (acceptable daily intake)

AdP – askorbildipalmitat

AHA – alfa hidroksi kisline

AO – antioksidant

AP – askorbilpalmitat

AS – askorbilstearat

ATIP – askorbiltetraizopalmitat

ATK – serin-treonin kinazna pot

AZA – azelainska kislina

CIR – kozmetični pregled sestavin (Cosmetic Ingredient Review)

DHICA - 5,6-dihidroksiindol-2-karboksilna kislina

DOPA – 3,4-dihidroksifenilalanin

EFSA – Evropska agencija za varnost hrane (European Food Safety Authority)

ERK – zunajcelična signalno regulirana kinaza

FDA – Ameriški urad za hrano in zdravila (Food and Drug Administration)

GRAS – splošno priznано kot varno (Generally Recognized As Safe)

GSK – golostebelni sladki koren

HP – hiperpigmentacija

HQ – hidrokinon

KA – kojinska kislina

KAS – kozmetično aktivne sestavine

KI – kozmetični izdelki

LD50 – enkratni odmerek, ki povzroči po določenem času smrt 50 % poskusnih živali

MED – minimalni odmerek, pri katerem se pojavi eritem

MIFT– transkripcijski faktorja mikroftalmije

MOS – meja varne uporabe (Margin Of Safety)

MTF – mešanica tokoferolfosfatov

NOAEL – odmerek, pri katerem ni nobenih negativnih učinkov (No Observed Adverse Effect Level)

NOEL – največji odmerek, ki ne povzroča nobenih sprememb (No Observed Effect Level)

PKB – protein kinazna B pot

SBC – parameter tvorbe celic s sončnimi opeklinami

SCC – Znanstveni odbor za kozmetologijo (Scientific Committee on Cosmetology)

SCCS – Znanstveni odbor za varstvo potrošnikov (Scientific Committee on Consumer Safety)

SCCNFP – Znanstveni odbor za kozmetične in neprehrambne proizvode (Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food products)

SED – odmerek sistemske izpostavljenosti (Systemic Exposure Dosage)

TA – tokoferilacetat

TEWL – transepidermalna izguba vode (Transepidermal water loss)

TS – tokoferilsukcinat

UV-sevanje – ultravijolično sevanje

1. Uvod

Hiperpigmentacije (HP) so motnje v pigmentaciji kože, za njih je značilna povečana količina pigmenta melanina v koži. To vodi v področja s povečano gostoto pigmenta ali v področja z neobičajno porazdelitvijo pigmenta. Za zaviranje HP poznamo več načinov, zmanjšamo jo lahko z zaviranjem produkcije melanina in/ali zaviranjem porazdelitve melanina ter s spojinami, ki imajo protivnetni in/ali antioksidativni učinek. Za reševanje problemov s HP se uporabljajo kozmetični izdelki (KI) za posvetlitev kože. Ti vsebujejo kozmetično aktivne sestavine, ki tako ali drugače delujejo na kožo, posledica njihovega delovanja pa je posvetlitev kože oziroma pigmentnih madežev.

1.1. Koža

Koža je naš največji organ. Opravlja veliko funkcij, ki so pomembne za celoten organizem. Deluje kot bariera, z ene strani preprečuje izgubo vode, elektrolitov in drugih snovi, z druge strani pa preprečuje vstop neželenim in nevarnim molekulam iz okolice v kožo in organizem. Nudi zaščito pred mehanskimi, fizikalnimi, kemijskimi in mikrobiološkimi vplivi. Sodeluje pri uravnavanju telesne temperature, izločanju snovi iz telesa in sintezi vitamina D. V njej se odvijajo imunološki procesi. Je naše največje čutilo. Sodeluje pri neverbalni komunikaciji, nam pomaga pri izražanju čustev, razpoloženja. Sestavljena je iz treh plasti: *epidermis* (povrhnjica), *dermis* (usnjica) in *subcutis* (podkožje).

Epidermis je sestavljen iz petih plasti: *stratum basale* (bazalni plast), *stratum spinosum* (trnasta plast), *stratum granulosum* (zrnasta plast), *stratum lucidum* (svetla plast) in *stratum corneum* (rožena plast). Obnavlja se od plasti *stratum basale*, kjer se keratinociti in korneociti delijo ter nato potujejo proti vrhu, v druge plasti kože, v *stratum corneumu* pa se lušči. Čas, ki je potreben, da nova zarodna celica pride na površino kože (turn over), je pri zdravih ljudeh od 28 do 30 dni. Na nekaterih mestih, kot je na primer lice, pa ta proces poteka hitreje, v 13 do 14 dneh (1,2).

Dermis je sestavljen iz vezivnega tkiva, krvnih in limfnih žil, živcev in čutilnih celic. Sestavljen je iz dveh plasti papilarne in retikularne. V *dermisu* so fibroblasti, ki sodelujejo v tvorbi kolagena, fibrociti, limfociti in makrofagi. Vezivno tkivo sestavljata dve vrsti vlaken: kolagenska in elastična. Kolagenska vlakna se lahko diagonalno raztegnejo, vendar se ne morejo vrniti v prvoten položaj brez elastičnih vlaken. Vsebujejo kolagen, ki je sestavljen iz pravilno ponavljajočih se proteinskih molekul, ki imajo visok delež aminokislin glicina,

prolina in hidroksprolina. Elastin, ki sestavlja elastinska vlakna, se razlikuje od kolagena po histoloških lastnostih in netopnosti v vodi (1).

Subcutis ali podkožje je v glavnem sestavljeno iz maščobnega tkiva. Je najbolj notranji sloj kože, sestavljen je iz lipocitov, ki so razporejeni v maščobne lobule. Pri ljudeh, ki niso močnejše postave, predstavlja maščobno tkivo iz *subcutisa* približno 80 % celotne telesne maščobe (2,3).

1.1.1. Pigment

Melanin je kožni pigment. Barva melanina je odvisna od rase in je lahko rumena, rjava ali črna. Melanin ima zaščitno funkcijo, pred ultravijoličnim sevanjem (UV-sevanjem). Poznamo dve vrsti melaninske pigmentacije. Prva je vzrok za barvo kože, pri kateri je pigmentacija gensko določena, in nastaja brez vpliva sonca in drugih dejavnikov. Druga pa je inducirana barva kože, ki nastane po sončenju ali po izpostavljanju umetnemu UV-sevanju, rentgenskim sevanjem, hormonski stimulaciji in po prebolelih vnetjih kože. Pri različnih rasah ni razlike v skupnem številu melanocitov, vendar so melanociti pri temnopoltih ljudeh produktivnejši, kar pomeni, da producirajo več melanosomov, pigment pa je grob in temnejši. Poleg tega je pri temnopoltih ljudeh pigment v vseh plasteh *epidermisa*, pri svetlopolnih pa se nahaja samo v zarodni plasti *epidermisa*. Študije so pokazale, da je barva polti pri različnih rasah določena z velikostjo pakiranja, porazdelitvijo in razgradnjo melanosomov znotraj keratinocita. Veliki melanosomi, ki jih najdemo pri temnopolti populaciji, se ne združujejo, ampak posamično krožijo po plasteh živega *epidermisa*. So dolgo živeči, kar pomeni, da počasi razpadajo. Majhni melanosomi, ki jih najdemo pri svetlopolni populaciji, se vežejo v komplekse, ki so oviti s skupno membrano. Za male melanosome je značilno, da v primerjavi z velikimi melanosomi hitro razpadajo (1).

1.1.2. Melanogeneza

Nastajanje pigmenta ali melanogeneza se začne v melanocitih znotraj melanosomov. Razlikujemo dve vrsti melanosomov: eumelanosome in feomelanosome. Eumelanosomi so eliptične oblike in v njih se proizvaja eumelanin, ki je rjave ali črne barve. Feomelanosomi pa so sferične oblike in proizvajajo feomelanin, ki je svetle barve in daje barvo kože in las, od rumene do oranžno-rjave. Pigment v keratinocitih zori v popolnoma pigmentirana zrnca. Melanin je polimer indol-5,6-kinona in nekaterih intermediatov, nastaja z reakcijami, prikazanimi na sliki 1 (priloga I). Tirozinaza je potrebna za biokemijsko pretvorbo

aminokislina tirozina v melanin. Tirozinaza je aerobna oksidaza, ki za svoje delovanje potrebuje molekularni kisik in baker v enovalentni obliki. Ob prisotnosti dvovalentnega bakra pa je aktivnost tirozinaze močno zmanjšana. Inhibitorji tirozinaze so fenoli, kateholi, kinoni in sulfhidrilne spojine. Ko je baker vezan na SH-skupine, je tirozinaza v inaktivni fazi. Sevanje UV-B oksidira SH-skupine, kar sprosti bakrov ion. Poleg tega so potrebni za aktivnost tirozinaze sledovi niklja, kobalta, vanadija in 3,4-dihidroksifenilalanina (DOPA), kasneje tudi ioni cinka. Tirozin z delovanjem tirozinaze in kisika počasi prehaja v DOPA, zatem pa s hitro reakcijo v DOPA-kinon. Ta je nestabilen, zato nastane levkodopakrom, ta z dehidrogenacijo prehaja v dopakrom. Dopakrom je rdeč pigment z maksimalno absorpcijo v področju 305-475 nm. Po tem s pomočjo cinka pride do dekarboksilacije in hidrogenacije. Tako nastane 5,6-dihidroksiindol. Ta se z oksidacijo pretvori v indol-5,6-kinon. Zatem pride do polimerizacije, pri kateri zraven indol-5,6-kinona sodeluje tudi nekaj intermediatov. Na ta način nastane eomelanin, ki se veže na protein, končni produkt tega je rjavo-črni melaninprotein. Sinteza feomelanina je enaka sintezi eomelanina, vendar tukaj DOPA-kinon reagira s cisteinom in pri tem nastane S-cisteinilDOPA, ta se oksidira in kasneje polimerizira ter veže na protein (1).

1.2. Motnje v pigmentaciji kože

Med motnje v pigmentaciji kože spadajo tako hiper- (HP) kot hipopigmentacije. Te so lahko generalizirane ali lokalizirane. Pri hipopigmentacijah/hipomelanozi gre za pomanjkanje pigmenta, v primeru amelanoze pa gre za popolno odsotnost pigmenta. Za HP/hipermelanozo pa je značilna povečana količina melanina v koži. Povečana količina je lahko v *epidermisu*, takrat je koža temna. Če pa je povečana količina melanina v *dermisu*, je koža siva ali modra (1).

1.2.1. Hipopigmentacije

Pomanjkanje melanina opazimo pri albinizmu in vitiligu. V koži so prisotni melanociti, vendar manjka tirozinaza in s tem je onemogočen proces melanogeneze. Okulokutan albinizem je generalizirana hipopigmentacija, zanj je značilna hipopigmentacija oči, kože in las. Generalizirana hipopigmentacija je pogosto posledica genskih dejavnikov, lahko je rasna ali pa odraža prirojeno pomanjkljivost melanizacije kože. Drugi vzroki hipopigmentacije so hipotirodizem, primarna ali sekundarna odpoved hipofize z zmanjšanimi koncentracijami melanocit stimulirajočega hormona. Vitiligo pa spada med

lokalizirano hipopigmentacijo, pojavi se pri približno 1 % populacije. Najprej opazimo vitiligo na mestih, ki so izpostavljeni soncu. Zanj je značilna hipopigmentacija in/ali popolna depigmentacija, to je popolna izguba kožnega pigmenta (1,4).

1.2.2. Hiperpigmentacije

HP so lahko razpršene ali pa se pojavljajo kot omejeni hiperpigmentacijski madeži. Vzroki za nastanek HP so različni. Med pogoste HP sodijo melazma, sončne pege, postinflamatorna hiperpigmentacija in kloazma, ki je melazma, ki se pojavi ob hormonski stimulaciji pri nosečnosti ali pri uporabi kontraceptivov. Izpostavljenost UV-svetlobi lahko poslabša motnje HP. Posamezniki s temnejšo poltjo imajo večjo verjetnost, da razvijejo motnje v pigmentaciji. Klinično se motnje v pigmentaciji kažejo kot rjavo ali modro razbarvanje, odvisno od tega, ali se nalaganje melanina pojavlja v *epidermisu* ali *dermisu*. Lokacijo nalaganja pigmenta določimo s pomočjo Wood-ove svetilke, lokacija vpliva na odločitve glede zdravljenja HP (5).

Epidermalna HP je lahko rezultat proliferacije melanocitov, hiperaktivnosti melanocitov ali povečanega prenosa melanocitov do keratinocitov. Povečana sinteza melanina iz njegovega prekursorja tirozina je proces, ki je odvisen od tirozinaze in zahteva več reakcij oksidacije, kar je razvidno na sliki 2 (priloga I), pod številko 1. Povečan prenos melanosomov v keratinocite je odvisen od aktivacije keratinocitnega proteazno aktiviranega receptorja-2 (na sliki 2, priloga I, pod številko 2). Melanofagi so dermalni makrofagi, ki imajo fagocitirane granule melanina (na sliki 2, priloga I, pod številko 3). Prisotnost teh celic povzroča modro hiperpigmentacijsko obarvanje, ki je po navadi odporno na topikalne terapije (5).

Med HP spadajo:

- Pege: najpogostejše so pege, ki se pojavljajo v otroštvu pri svetlo in oranžno-lasih ljudeh na licih in drugih delih telesa. Izpostavljenost soncu po navadi še poveča intenziteto obarvanosti peg. Na mestu peg število melanocitov ni povečano, ti so le produktivnejši in imajo večje melanosome (1).

- Melasma: pojavlja se na območjih kože, ki je izpostavljena soncu, predvsem na obrazu, občasno tudi na vratu in podlakti. Najpomembnejša dejavnika pri melasmi sta izpostavitvev soncu in genetska predespozicija. Drugi dejavniki, pri katerih se melasma lahko pojavi, so nosečnost, eksogeni hormoni (kontracepcija, nadomestno hormonsko zdravljenje), bolezni jeter, disfunkcija ščitnice, kozmetika (krema z vazelinom) in nekatera zdravila. Število HP

se razlikuje od ene same lezije do več madežev. Lezije imajo nepravilne in zarežane meje. Glede na obliko lezij poznamo tri tipe melasme: centrofacialni vzorec– vključuje čelo, lica, zgornjo ustnico, brado; malarjev vzorec– vključuje lice in nos ter mandibularni/čeljustni vzorec– vključuje čeljust. Poznamo štiri histološke tipe melasme, ki jih določimo s pomočjo Woodove svetilke, to so epidermalni, dermalni, mešani in nedoločen tip melasme. Z Woodovo svetilko lahko določimo globino odlaganja melanina pri melasmi (1,6).

- Starostne pege/lentigi: so hiperpigmentirani madeži na koži, ki je bila izpostavljena soncu. Ti madeži so po navadi na licih in rokah. Pojavljati se začnejo po 40. letu starosti, pri obeh spolih. Število starostnih peg po navadi narašča z leti (1).

- Fototoksični dermatitis: nastane zaradi fotokemične reakcije med UV-sevanjem in fototoksično snovjo. Fototoksične snovi se lahko nanašajo topikalno (psoraleni), lahko se zaužijejo (nekatera zdravila) ali pridemo v stik z njimi nenamerno (fototoksične rastline). Po izpostavljenosti tem snovem se na koži po navadi razvijejo eritem in mehurji. Berloque dermatitis-fotodermatoza je fotodermatoza, povzročena s furokumarini (psoraleni). Nastane, če se vlažna in preznojena koža namaže z eteričnimi olji, ki vsebujejo furokumarine (to je na primer olje bergamotke), ali pridemo v stik z zelišči, ki vsebujejo furokumarine, in smo po tem izpostavljeni soncu. Histopatologija kaže povečano količino melanina v bazalni plasti, v kasnejših stopnjah pa se melanin kopiči v dermalnih melanofagih (1,6).

1.3. Mehanizmi delovanja učinkovin za zaviranje hiperpigmentacije

HP je posledica pretiranega nalaganja melanina, kar vodi v področja s povečano gostoto pigmenta ali v področja z nenavadno porazdelitvijo pigmenta. UV-sevanje lahko poslabša pigmentacijo zaradi povečanja vnetnih dejavnikov. Na primer UV-inducirana peroksidacija lipidne membrane poveča produkcijo reaktivnih kisikovih zvrsti. UV-sevanje prispeva k hipermelanozi s povečanim izražanjem keratinocitov, melanogenskih mediatorjev in s proteazo aktiviranega receptorja-2.

Poznamo različne mehanizme, s katerimi lahko zaviramo HP:

- zaviranje produkcije melanina in/ali zaviranje porazdelitve melanina
- protivnetni učinki
- antioksidativni učinki (5).

1.3.1. Zaviranje produkcije in porazdelitve melanina

Tovrsten mehanizem učinkovin, ki zavirajo HP, je zaviranje produkcije in/ali porazdelitve melanina na katerikoli stopnji. Veliko učinkovin zavira tirozinazo, to je encim, ki katalizira več oksidacijskih reakcij potrebnih za sintezo melanina iz njegovega prekursorja aminokislina tirozina. Tirozinaza je glikoprotein, ki je v melanosomih, to so vezikli, ki transportirajo polimere melanina. Ko melanociti nastanejo v *epidermisu*, se melanosomi prenesejo na okolijske keratinocite. Inhibitorji serinskih proteaz zavirajo prenos melanosomov z zaviranjem s keratinocitno proteazo aktiviranega receptorja-2 (5).

Zaradi ključne vloge, ki jo ima tirozinaza v biosintezi melanina, večina sredstev za posvetlitev kože deluje tako, da zmanjša funkcijo tega encima. To naredijo s pomočjo različnih mehanizmov, ki jih lahko vidimo na sliki 3 (priloga I): (i) motnje v transkripciji ali glikozilaciji, (ii) direktna inhibicija encima, (iii) z zmanjšanjem stranskih produktov in s (iv) posttranskripcijsko kontrolo (7).

1.3.1.1. Transkripcijskih nadzor nad izražanjem tirozinaze

Transkripcija genov, ki kodirajo tirozinazo in s tirozinazo povezan protein -1 TRP-1, je pod transkripcijskim nadzorom transkripcijskega faktorja mikroftalmije (MITF). Tiste učinkovine, ki lahko inhibirajo izražanje in aktivnost MITF, zunajcelično signalno regulirano kinazo (ERK) in serin-treonin kinaze (ATK)/ protein kinaze B (PKB) poti, lahko delujejo kot depigmentacijske učinkovine. Med te spada trans-retinojska kislina (tretinoin), ki deluje na z retinoidi aktivirane transkripcijske faktorje, moti razvoj melanocitov in melanogenezo. Med učinkovine, ki zmanjšajo izražanje MITF, spadajo tudi C2-ceramidi, inhibirajo proliferacijo celic in melanogenezo v mišjih celičnih linijah melanocitov, najverjetneje zaradi začetnega zaviranja in poznega aktiviranja AKT/PKB in ERK poti (7).

1.3.1.2. Glikozilacija in zorenje encimov melanogeneze

Največja posttranslacijska modifikacija melanogenskih encimov je glikozilacija na asparaginskih ostankih. Posledica inhibicije N-glikozilacije je zmanjšanje zorenja melanosomov in zmanjšanje njihove aktivnosti (7).

1.3.1.3. Nadzor tirozinazne aktivnosti

Klasifikacija inhibitorjev tirozinaze je zahtevna zaradi sposobnosti spojin, da delujejo na več načinov. Reagirajo tako s katalitičnimi kot z regulatornimi deli encima ali pa se

metabolizirajo v produkt, ki deluje kot kompetitivni ali ne-kompetitivni inhibitor. Hitrost melanogeneze omejuje hidrosilacija tirozina, za njo je potreben kofaktor 1-3,4-dihidroksifenilalanin (L- DOPA), ki je substrat sekundarne aktivnosti tirozinaze. Večina inhibitorjev tirozinaze so derivati fenola/katehola, ki so strukturno podobni tirozinu ali DOPA, delujejo kot analogi substratov tirozinaze, ki pa ne proizvajajo pigmenta (7).

1.3.1.4. Posttranskripcijski nadzor tirozinaze

Nenasičene maščobne kisline, kot sta linolna in oleinska kislina, zavirajo nastanek melanina *in vitro* v korelaciji s stopnjo nenasičenja. Nasičene maščobne kisline, kot je palmitinska kislina, pa povečajo hitrost melanogeneze. Linolna kislina je *in vivo* pokazala največji učinek posvetlitve pri UVB-inducirani pigmentaciji brez toksičnih učinkov na melanocyte (7).

1.3.1.5. Razpršitev melanina in pospešitev obnavljanja kože

Sposobnost spojin, da razpršijo pigment melanin in/ali pospešijo obnavljanje *epidermisa*, lahko povzroči posvetlitev kože. Kemične spojine, ki se uporabljajo kot eksfolianti, na primer alfa-hidroksi kisline, proste maščobne kisline in retinojska kislina, spodbujajo celično obnovo in s tem olajšajo odstranitev melaniziranih keratinocitov, kar vodi v izgubo pigmenta. Za njihovo lokalno uporabo so dokazali, da posvetlijo starostne pege, ne da bi zmanjšali njihovo velikost ali njihovo število, in so lahko uporabni pri zdravljenju melazme. Ena od takih spojin je likuiritin, flavonoidni glikozid golostebelnega sladkega korena (*Glycyrrhiza glabra*) (7).

1.3.1.6. Zaviralci vnetno inducirane melanogenezne odziva

Nekateri mediatorji, kot na primer interleukin-1a (IL-1a) in endotelin-1 (ET-1), ki jih proizvajajo keratinociti, lahko po izpostavljenosti vnetnim dejavnikom ali UV-sevanju spodbudijo melanogenezo. Zato so protivnetne učinkovine koristne za preprečevanje ali zdravljenje postvnetne HP. Topikalna uporaba ekstrakta prave kamilice (*Matricaria chamomilla*) inhibira UV-inducirano hiperpigmentacijo (7).

1.3.2. Protivnetni in antioksidativni učinki spojin za zaviranje hiperpigmentacije
Nekatere učinkovine zavirajo HP s protivnetnimi in antioksidativnimi učinki. *In vitro* študije kažejo, da vnetni mediatorji povečajo melanogenezo; levkotrieni C4 in D4 in prostagladin E2 spodbujajo rast melanocitov in proliferacijo dendritov, nekateri vnetni mediatorji

stimulirajo nastajanje pigmenta, vključno z interlevkinom-1 in interlevkinom-6 ter reaktivnimi kisikovimi spojinami. Med učinkovine z močnimi antioksidativnimi lastnostmi spadajo flavonoidi. Zmanjšajo melanogenezo z zaviranjem tvorbe reaktivnih kisikovih spojin. Flavonoide izolirajo iz rastlinskih virov na primer iz soje in pegastega badlja (*Silybum marianum*). Vendar pa flavonoidi nimajo univerzalnih antimelanogenih lastnosti (5).

1.3.3. Uporaba rastlinskih učinkovin kot preventiva pred hiperpigmentacijo
Raziskave kažejo, da na primer izvleček bršljanaste grenkuljice (*Glechoma hederacea*) zmanjša UV-inducirano pigmentacijo, vendar ne posvetli že obstoječih lezij melazme. Izvleček bršljanaste grenkuljice ima antipigmentni učinek namesto depigmentacijskega, deluje tudi potivnetno in antioksidativno. Torej se nekatere rastlinske učinkovine lahko uporabljajo kot preventivna zaščita pred HP (podrobneje obravnavane v poglavju 1.4.1.). Posamezniki z večjimi dejavniki tveganja za nastanek HP, kot sta velika izpostavljenost soncu in družinska anamneza dispigmentacij, imajo lahko koristi od teh učinkovin. Za te rastlinske učinkovine pa je tudi znano, da povzročajo alergijske in fototoksične reakcije (5).

1.4. Učinkovine za posvetlitev kože/zaviranje hiperpigmentacije

Poznamo veliko učinkovin za posvetlitev kože. Tradicionalne depigmentne učinkovine so hidrokinon, kojinska kislina in kortikosteroidi, so sicer zelo učinkovite, vendar imajo tudi neželene učinke, ki se pojavijo pri dolgotrajnejši uporabi. Med neželene učinke sodijo ohronoza (motnja v metabolizmu tirozina), atrofija, kancerogeneza in drugi lokalni in sistemski neželeni učinki. Tudi rastlinske učinkovine vplivajo na pigmentacijo kože, njihova prednost je, da zavirajo melanogenezo na različne načine brez melanocitotoksičnosti. Številni rastlinski izvlečki so močnejši zaviralci proizvodnje melanina, kot sta hidrokinon in kojinska kislina, ter jih ne povezujejo s citotoksičnostjo in mutagenostjo za melanocite. Primeri rastlinskih depigmentnih učinkovin so: arbutin, aloezin, gentizinska kislina, hesperidin, spojine v golostebelnem sladkem korenu (glabridin, glabren, izolikviritigenin lukraza, likviritin in izolikviritin) in niacinamid (8).

1.4.1. Novejše učinkovine in izvlečki rastlin za posvetlitev kože

- **Arbutin:** je naraven beta-D-glukopiranozidni derivat hidrokinona. Najdemo ga v posušeni listih vednozelenega gornika (*Arctostaphylos uva-ursi*), eden izmed virov pa je tudi debelolistna bergenija (*Bergenia crassifolia*) iz družine kammokrečevk (*Saxifragaceae*). Delovanje arbutina je zaviranje melanosomske tirozinaze in 5,6-dihidroksiindol-2-karboksilna kislina (DHICA) polimerazne aktivnosti pri necitotoksičnih koncentracijah. Domnevajo, da je aktivnost arbutina povezana s strukturnimi homologi, ki si jih deli s tirozinom, kar vodi v kompetitivno inhibicijo katalitične funkcije tirozinaze. V študijah so ugotovili, da ima alfa-arbutin (4-hidroksifenil alfa-glukopiranozid) močnejši zaviralni učinek na tirozinazo kot arbutin. Alfa-arbutin je nadomestil arbutin v topikalnih posvetlitvenih izdelkih za kožo zaradi svoje večje učinkovitosti in stabilnosti. Hidrokinon je aktivna oblika arbutina, nastane s hidrolizno cepitvijo glikozida (8, 9).

- **Aloezin:** je spojina, izolirana iz rastline aloe (*Aloe vera*). Zanj je dokazana kompetitivna inhibicija tirozinaze. Dokazali so, da sta aktivnosti tirozin hidroksilaze in DOPA oksidaze inhibirani v odvisnosti od odmerka aloesina. Opazili so, da aloezin v kombinaciji z arbutinom sinergistično zavira proizvodnjo melanina s pomočjo kombiniranih mehanizmov kompetitivne in nekompetitivne inhibicije tirozinazne aktivnosti (8).

- **Hesperidin:** je bioflavonoid, najdemo ga olupkih citrusov. V študijah so ugotovili, da hesperidin zavira sintezo melanina brez citotoksičnosti, ščiti pred UVA induciranimi poškodbami fibroblastov in pred oksidativnimi poškodbami kolagena. Nudi koristi pri posvetlitvi kože, izboljša ten kože in pomaga proti rumenemu obarvanju kože (8).

- **Niacinamid:** je biološko aktivna oblika niacina - vitamina B3. Najdemo ga v korenasti zelenjavi in v kvasovkah. Je pomemben prekurzor NADH (nikotinamid adenin dinukleotid) in NADPH (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat). Niacinamid zavira prenos melanosomov od melanocitov do keratinocitov. V študijah so dokazali, da niacinamid zmanjša HP-lezije in posvetli kožo, zmanjša produkte oksidacije kolagena in izboljša s staranjem povezano rumeno obarvanje kože (8).

- **Golostebelni sladki koren (*Glycyrrhiza glabra*):** Ekstrakti golostebelnega sladkega korena imajo več aktivnih snovi (glabridin, glabren, isolikviritigenin lukraza, likviritin in izolikviritin), ki lahko spodbujajo ali zavirajo melanogenezo. Večina sestavin v hidrofobni frakciji ekstrakta golostebelnega korena zavira tirozinazno aktivnost (8).

Glabridin je izoflavonoid, natančneje izoflavan. Deluje kot zaviralec tirozinaze, ima pa tudi protivnetne lastnosti. Izmed KAS, ki se uporabljajo za posvetlitev kože, je glabridin najvarnejši, saj ima najmanj neželenih učinkov in najblažje. Iz tega razloga je med najpogosteje uporabljenimi sestavinami za posvetlitev kože (9).

- **Bela murva (*Morus alba*):** Posušeni listi bele murve zavirajo tirozinazno aktivnost. Mulberozid F je aktivna učinkovina, ki zavira tirozinazno aktivnost in zavira proizvodnjo melanina (8).

- **Ginseng (*Panax*):** iz svežih listov ginsenga pridobljena p-kumarinska kislina zavira oksidacijo L-tirozina (8).

- **Ginko (*Ginkgo biloba*):** izvlečki pridobljeni iz ginkovca se kažejo kot močan lovilec radikalov. Ginko flavon glikozidi lahko zavirajo aktivnost tirozinaze s keliranjem bakra v encimih (8).

- **Elagna kislina:** je polifenolna spojina, najdemo jo v rastlinah. Deluje kot zaviralec tirozinaze in kot AO. Preprečuje pigmentacije, ki so nastale zaradi sončnih opeklin. Ne-kompetitivno zavira tirozinazo, z njeno zmožnostjo kelacije bakra. Uporablja se v KI za posvetlitev kože in zaščito kože pred oksidativnim stresom (7,9).

1.4.2. Tradicionalne učinkovine za posvetlitev kože

- **Azelainska kislina (AZA):** je naravna kislina. Ima koristne terapevtske učinke na *akne vulgaris* in nekatere pigmentne motnje, kot sta melazma in lentigo. Delovanje AZA *in vitro* posega v funkcijo tirozinaze, veže se lahko na amino ali karboksilne skupine tirozinayyy in s tem blokira dostop tirozinu do aktivnega mesta s kompetitivno inhibicijo. Zavira tudi sintezo DNA in mitohondrijsko aktivnost v melanocitih. Ne deluje na normalne melanocyte, ima pa antiproliferativni in citotoksični vpliv na hiperaktivne in neobičajne melanocyte. Uporablja se v koncentracijah od 15 do 20 %. Pri običajnih koncentracijah ljudje dobro prenašajo AZA. Neželeni učinki, ki se lahko pojavijo so srbenje, rdečina, luščenje in draženje; običajno so blagi in izginejo v 2 do 4 tednih. Alergijska preobčutljivost in fototoksične reakcije se lahko pojavijo, vendar so redke. V kozmetičnih izdelkih (KI) je po navadi od 15 do 20 % AZA (7,9,10).

- **Hidrokinon (HQ):** ali benzen-1,4-diol je derivat benzena s formulo $C_6H_4(OH)_2$. HQ ima dve hidroksilni skupini, ki sta vezani na benzenski obroč na para-pozicijah. Uporablja se tudi

kot sredstvo za posvetlitev kože v topikalnih izdelkih za posvetlitev kože. HQ deluje tako, da inhibira pretvorbo DOPA v melanin, z inhibicijo tirozinaze. Zavira tudi oblikovanje ali razgradnjo melanosomov z zaviranjem sinteze DNA in RNA znotraj melanocitov. Učinki depigmentacije HQ so vezani na mesto aplikacije in so reverzibilni. HQ vpliva le na melanocite z aktivno tirozinazno aktivnostjo, kot na primer epidermalni melanociti, in na hiperaktivne melanocite. Produkti oksidacije so kinoni in ROS, ti privedejo do oksidativnih poškodb membrane, lipidov in proteinov, vključno s tirozinazo. HQ lahko vpliva na pigmentacijo tudi preko kovalentne vezave na histidin ali preko interakcije z bakrom na aktivni strani tirozinaze, preko inhibicije DNA in RNA sinteze in s spremembo oblikovanja melanosoma in velikosti melanizacije. Učinek HQ po navadi opazimo po nekaj tednih do nekaj mesecih vsakodnevne uporabe. Učinkovitost je odvisna od koncentracije HQ, kemijske stabilnosti in uporabljenega vehikla. Večja kot je koncentracija HQ, večja je učinkovitost, vendar so večji tudi neželeni učinki – draženje. Za najbolj varne in učinkovite štejejo formulacije z 2 % HQ. Neželeni učinki, ki se pojavijo pri uporabi HQ, razdelimo na kronične in akutne. Med akutne spadajo alergijski in kontaktni dermatitis, razbarvanje nohtov in postvnetna HP. Med najpomembnejši kronični neželen učinek spada eksogena ohronoza. Ta pigmentna sprememba je ireverzibilna in brez učinkovitega zdravljenja. Zaradi nevarnosti pri dolgotrajni uporabi HQ je njena uporaba v kozmetičnih izdelkih prepovedana s strani Evropske komisije (24th Dir. 2000/6/EC) (7,10,11).

- **Trans-retinojska kislina:** poznana tudi kot tretinoin. Za njo so *in vitro* dokazali, da zavira povečan nastanek melanina. *In vivo* povečuje cikel epidermalnih celic, zmanjšuje kontaktni čas med keratinociti in melanociti ter spodbuja hitro izgubo pigmenta skozi epidermopoezo. Neželeni učinki, ki se lahko pojavijo ob uporabi, so eritem, luščenje kože in v nekaterih primerih boleče HP. Pri uporabi trans-retinojske kisline je nujna uporaba UV-zaščitnih krem za preprečevanje sončnih opeklin in fotopoškodb (10).

- **Kojinska kislina (5-hidroksi-2-(hidroksimetil)-4-piron):** je antibiotik, ki ga proizvajajo vrste *Aspergillus* in *Penicillium*. Je močan zaviralec tirozinaze. Posvetlitev povzroča zaradi keliranja bakra v tirozinazi in inhibiranja aktivnosti jedrskega faktorja kappaB (NFkB) v keratinocitih. Deluje tudi kot antioksidant (AO) in preprečuje pretvorbo o-kinonov v ustrezni melanin, je tudi dober lovilec radikalov. Uporaba kojinske kisline (KA) v kozmetiki je omejena zaradi draženja kože in zaradi nestabilnosti med skladiščenjem. Zaradi tega so bili sintetizirani mnogi derivati KA, da bi izboljšali njene lastnosti s pretvorbo C-7 hidroksilne

skupine v ester, hidroksifenil eter, glukozid, aminokislinske derivate ali tripeptidne derivate. Uporablja se v koncentracijah od 1 do 4 % sama ali v kombinaciji s tretioninom, HQ in ali kortikosteroidi. Sinergistično deluje z glikolno kislino (10,12,13).

- **4-n-butilresorcinol**: neposredno zavira aktivnost tirozinaze in s tirozinazo povezanih proteinov TRP-1. Je zelo učinkovit in brez toksičnosti pri večjih koncentracijah, povzroča tudi manj draženj kot druga sredstva za posvetlitev kože (12).

1.4.3. Antioksidanti

Spojine z antioksidativnimi lastnostmi imajo hipopigmentne učinke, zaradi interakcije z o-kinoni ali z bakrom v aktivnem mestu na tirozinazi. S tem se zmanjša oksidativna polimerizacija intermediatov melanina. Poleg tega AO regulirajo signalni proces, ki omogoča stimulacijo epidermalne melanogeneze s čiščenjem reaktivnih kisikovih spojin, ki nastajajo v koži po izpostavljenosti UV-žarkom (14).

- **Askorbinska kislina (AA) ali vitamin C**: je AO, deluje kot inhibitor tirozinaze. Ovira nastanek pigmenta na različnih korakih sinteze melanina z interakcijo z bakrovimi ioni, z zmanjšanjem dopakinona in z zaviranjem oksidacije DHICA. AA ima reducirajoč učinek na o-kinone, oksidira melanin in lahko spremeni polt iz temne v svetlo. Izziv za doseganje kliničnih učinkov askorbinske kisline v KI je njena nestabilnost in slaba difuzija v kožo, zaradi njenih hidrofilnih lastnosti. Za AA je značilno, da v vodnih raztopinah hitro oksidira in se razgradi. Stabilnost lahko povečamo s sintezo njenih derivatov, na primer: L-askorbinsko kislino, askorbilfosfatom, askorbilpalmitatom in askorbilglukozidom. Različni estri AA, kot je na primer magnezijev-l-askorbil-2-fosfat, pa so stabilni v vodi in alkalnih medijih ter se perkutano absorbirajo. Te spojine lahko posvetlijo kožo pri normalnih in hiperaktivnih melanocitih (7,10,14,15).

- **Alfa-lipojična kislina**: je disulfidni derivat oktanojske kisline, deluje antioksidativno. Preprečuje z UV-svetlobno inducirane oksidativne poškodbe z inhibiranjem aktivnosti jedrnega faktorja κB v keratinocitih. Inhibira tudi tirozinazno aktivnost, najverjetneje s kelacijo bakrovega iona. Učinkovitost je posledica dihidrolipojske kisline, ki reagira z reaktivnimi spojinami. Dihidroksilipojska kislina lahko regenerira oksidiran askorbat in alfa-tokoferol (14,15).

- **Citronska kislina**: je v limonovcu, v manjši količini pa tudi v drugih agrumih (grenivka, limeta, pomaranča). Citronska kislina odpravlja HP, sinergistično deluje z drugimi AO (9).

- **Dihidroksikumarini (6-hidroksi-3,4-dihidroksikumarin):** so novejši AO, ki imajo antimelanogenske učinke na človeške melanocite pri necitotoksičnih koncentracijah. Te spojine lahko delujejo s pospeševanjem sinteze glutationa in z zaviranjem prenosa tirozinaze. Primera teh spojin sta 7-alil-6-hidroksi-4,4,5,8-tetrametil hidroksikumarin in 6-hidroksi-3,4-dihidroksikumarin (14).

- **Tokoferol ali vitamin E:** je AO. Za antioksidativno delovanje je odgovorna hidroksilna skupina, ki lahko odda vodikov atom reaktivni spojini. Tokoferol se lahko po reakciji z reaktivnimi spojinami regenerira s pomočjo AA. Med naravnimi tokoferoli je najbolj uporabljen alfa-tokoferol. Alfa-tokoferol in njegov derivat alfa-tokoferol ferulat ovirata membransko peroksidacijo lipidov in povečata intercelularno vsebnost glutationa, kar vodi v depigmentacijo/razbarvanje. Problem alfa-tokoferola je fotosenzibilnost. Njegovo stabilnost so skušali povečati s sintezo različnih estrov, najbolj se uporabljata sukcinatni in acetatni (14,15).

- **Resveratrol:** je AO, po kemijski strukturi je stilbenoid rastlinskega izvora. V študijah so dokazali močne inhibitorne učinke resveratrola na tirozinazo gob. Najdemo ga v jagodičevju (npr. asaj, malina, murva), japonskem dresniku, v zemeljskem orešku (arašid) in je sestavina rdečega vina. Kožo ščiti pred poškodbami UV-sevanja. Daje zaščito pred soncem, preprečuje staranje, prispeva k boljši obnovi celic in izboljša njihovo presnovo, ima protivnetne in protirakave lastnosti ter je lovilec radikalov. Najverjetneje ga presnavlja tirozinaza, kar vodi v tvorbo o-hidroksi derivata, ki je kompetitivni inhibitor encima. Zaradi nestabilnosti resveratrola, razpade namreč na svetlobi, je oblikovanje KI z resveratrolom pravi izziv (7,9). Oksiresveratrol, ki ga ekstrahirajo iz bele murve (*Morus alba*), ima močnejšo inhibitorno aktivnost na DOPA oksidazno aktivnost pri gobah kot resveratrol. To nam pove, da ima število in položaj hidroksilnih substituentov pomembno vlogo pri aktivnosti analogov resveratrola (7).

- **Ubikinon in ubikinol:** sta derivata benzokinona. Ubikinon je oksidirana oblika, ubikinol pa reducirana oblika iste spojine. Tvrstne spojine uporabljamo predvsem za zaščito kože pred antioksidativnim stresom, zmanjšajo pa tudi vidne znake fotostaranja. *In vitro* so dokazali, da lahko ubikinol regenerira oksidirano obliko alfa-tokoferola (9,15).

1.5. Varnost kozmetičnih izdelkov

Uradni list Evropske unije v uredbi 1223/2009 navaja, da je bistveno, da so KI, dostopni na trgu Evropske unije, varni za zdravje ljudi, če so uporabljeni pod normalnimi in razumljivo predvidenimi pogoji uporabe (16).

1.5.1. Kozmetični izdelek

Zakon o kozmetičnih proizvodih v 2. členu definira kozmetični izdelek kot: »katerakoli snov ali pripravek v končni obliki, namenjena nanašanju na zunanje dele človeškega telesa (povrhnjico, lasišče, nohte, ustnice ali zunanja spolovila) ali na zobe in sluznico v ustni votlini, z izključnim ali glavnim namenom, da jih očisti, odišavi ali zaščiti, jih ohrani v dobrem stanju, spremeni njihov izgled ali odpravi neprijeten telesni vonj (17)«.

Pred dajanjem KI v promet je treba zagotoviti oceno ustreznosti kozmetičnega proizvoda, ki je v 6. členu zakona o kozmetičnih proizvodih definirana: »Ocena ustreznosti mora biti izdelana na podlagi rezultatov opravljenih preskusov in študij, pri čemer je treba upoštevati splošne toksikološke lastnosti uporabljenih sestavin, njihovo kemijsko strukturo in izpostavljenost uporabnika. Oceno ustreznosti lahko izdelajo strokovnjaki z najmanj visokošolsko strokovno izobrazbo s področja kemije ali farmacije ali z univerzitetno izobrazbo s področja medicine ali toksikologije (18).«

1.5.2. Poročilo o varnosti KI

Poročilo o varnosti KI je sestavljeno iz dela A, ki vsebuje informacije o varnosti KI in dela B, ki vsebuje oceno o varnosti KI. Del A poročila je namenjen zbiranju podatkov, ki so potrebni za dokazovanje, da je KI varen, del B poročila pa je dejanska ocena varnosti izdelka (16).

1.5.2.1. Toksikološki profil snovi

Toksikološki profil snovi, ki so prisotne v KI, se določa v sklopu dela A poročila o varnosti KI. Namen tega dela poročila je opisati toksikološko varnost vsake snovi, prisotne v KI, določiti možno izpostavljenost in opredeliti tveganje. Varnosti KI je podana z varnostjo posamezne sestavine v njem. Toksikološki profil za vsako snov se določi z opredelitvijo nevarnosti in odziva na odmerek. Pri določanju toksikološkega profila snovi je treba upoštevati vse načine absorpcije in tudi sistemske učinke. Za izpostavljenost KI so relevantne dermalna, peroralna in inhalacijska izpostavljenost. Določi se najvišji odmerek,

pri katerem ne nastanejo nobeni negativni učinki – NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) [mg/kg/dan]. Na podlagi NOAEL je treba izračunati mejo varne uporabe – MOS (Margin Of Safety). Za izračun meje varne uporabe je bistvena absorpcija, ki je povezana z biološko razpoložljivostjo snovi. Sistemsko izpostavljenost lahko izračunamo z enačbo 1:

odmerek sistemske izpostavljenosti (Systemic Exposure Dose) – SED = zunanja izpostavljenost x absorpcija (dermalna, oralna ali inhalacijska)

enačba 1

Na podlagi NOAEL in SED je treba izračunati MOS. MOS za določen način uporabe je mogoče izračunati z enačbo 2:

$MOS = NOAEL / SED$

enačba 2

MOS je vrednost, ki se uporablja za ekstrapolacijo rezultatov iz študij na živalih na človeka. MOS mora znašati vsaj 100, da je mogoče reči, da je snov varna za uporabo v končnem izdelku (16,17).

1.5.2.2. Neželeni učinki

Neželeni učinki in resni neželeni učinki se navajajo v sklopu dela A poročila o varnosti KI. Namen tega dela poročila in podatkov v njem je spremljati varnost izdelka tudi po tem, ko je bil dan na tržišče, in po potrebi sprejeti ukrepe, ki omogočajo varno uporabo izdelka (16).

2. Namen dela

Vedno več ljudi se sooča s problemi in nepravilnostmi povezanimi s kožo, mednje spada tudi HP. HP so pogost problem predvsem pri starejši populaciji ljudi. Ker je videz danes zelo pomemben, se ljudje poslužujejo najrazličnejših načinov, da bi odpravili to težavo. Eden izmed načinov so kreme za posvetlitev kože. Namen magistrske naloge je ovrednotiti varnost KI za posvetlitev kože, določiti pogostost posameznih aktivnih sestavin v izdelkih in pregledati, katere od teh sestavin so najbolj varne. Po pregledu literature iz tega področja bomo pregledali sestavine izdelkov za posvetlitev kože, ki so prisotni na slovenskem trgu.

Za preučevanje smo naključno izbrali 51 različnih KI. Izdelke smo izbrali v lekarnah, drogerijah in trgovinah, kjer so na voljo KI, ter na internetu. Pregledali smo izdelke, ki so namenjeni širši uporabi in niso namenjeni uporabi v kozmetičnih salonih. S pomočjo literature bomo nato ovrednotili, ali so KAS za posvetlitev kože, ki so uporabljene v različnih kozmetičnih izdelkih, varne.

Preverili bomo naslednje hipoteze:

1. Vsi pregledani KI imajo na ovojnicah navedene sestavine, ki jih vsebujejo.
2. Vsi izdelki za posvetlitev vsebujejo le dovoljene sestavine za posvetlitev kože.
3. V skladu z vedno bolj popularno naravno kozmetiko bo veliko KAS za posvetlitev kože naravnega izvora (ekstrakti rastlin).
4. KAS za posvetlitev kože vsebuje veliko krem proti staranju kože.
5. Ker UV-sevanje inducira nastanek HP, bomo KAS za posvetlitev našli tudi v kremah za sončenje.

3. Materiali in metode

3.1. Izbor kozmetičnih izdelkov

Za preučevanje KI za posvetlitev kože smo naključno izbrali 51 različnih KI. Natančni podatki o izdelkih, njihova sestava in oblika so podani v prilogi II. Izdelke smo naključno izbrali v lekarnah, drogerijah, trgovinah, kjer so KI na voljo, in na internetu. Pregledani izdelki so iz vseh cenovnih razredov, namenjeni so širši uporabi, nobeden od KI ni vseboval certifikata. Poleg KI za posvetlitev kože smo bili pozorni tudi na druge KI, predvsem kreme proti staranju in zaščitne kreme za sončenje, saj smo tudi tam pričakovali KAS za posvetlitev kože. Zanimali so nas KI za posvetlitev kože, ki so prisotni na slovenskem trgu. Reprerentativnost vzorca smo skušali doseči s pregledom čim večjega števila kozmetičnih izdelkov.

3.2. Način pridobivanja podatkov

Izbranim KI smo pregledali sestavine in se osredotočili na tiste, ki imajo učinek na posvetlitev tena kože na tak ali drugačen način. Podatke o sestavinah posameznih izdelkov smo pridobili z ovojnine le-teh. Iz podatkov o sestavinah smo nato ugotovili pogostost pojavljanja določenih KAS, s pomočjo literature smo KAS pregledali. Ugotovili smo, katere vplivajo na pigmentacijo kože, in jih podrobneje pregledali s toksikološkega vidika, vidika uporabe in delovanja. Zbrane podatke smo obdelali s pomočjo opisne statistike. Imena spojin v magistrski nalogi so navedena po slovenski nomenklaturi po uredbi o kozmetičnih izdelkih.

3.3. Ocena varnosti KAS za posvetlitev kože

Oceno varnosti KAS za posvetlitev kože smo opredelili z oceno tveganja za pojav neželenih učinkov, ki bi lahko nastali po uporabi KI, ki vsebujejo KAS za posvetlitev kože. S pomočjo literature smo prikazali toksikološki profil najpogosteje zastopanih KAS za posvetlitev kože.

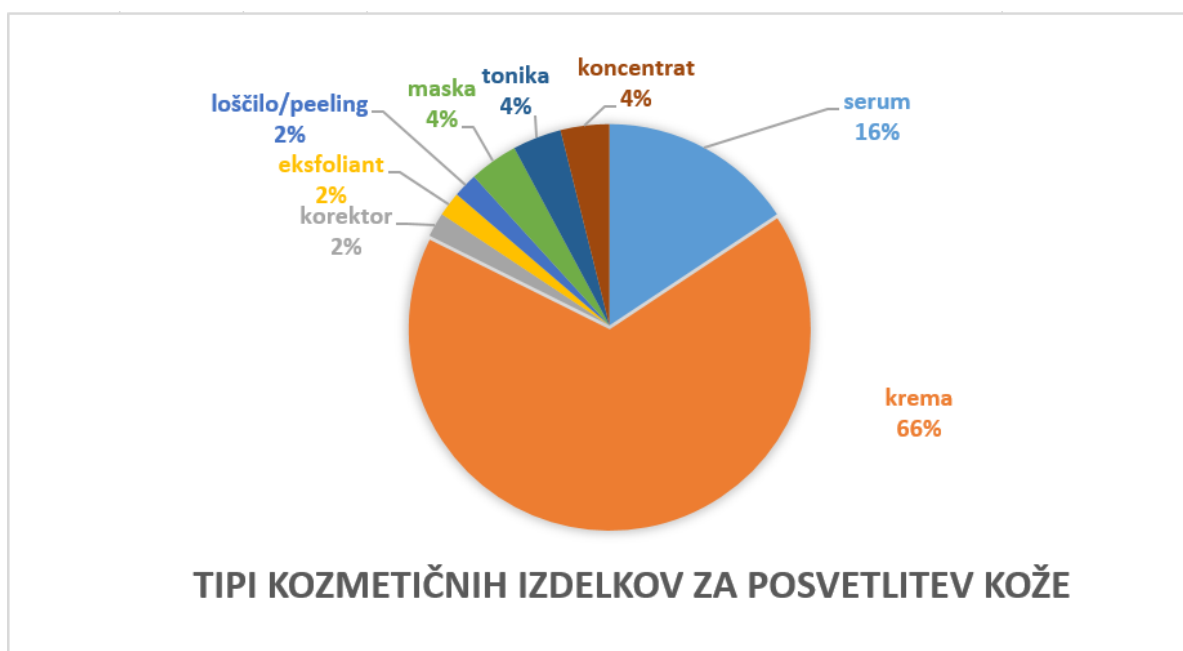
3.3.1. Toksikološki profil

Za najpogosteje zastopane KAS za posvetlitev kože smo zbrali podatke o vrednosti LD50, vrednosti NOAEL in izsledke toksikoloških študij o možnih neželenih učinkih. Toksikološke parametre za obravnavane KAS za posvetlitev kože smo primerjali med seboj.

Vrednost LD50 spojine je količina spojine v mg/kg tm, ki povzroči smrt pri polovici testirane populacije, predstavlja merilo akutne toksičnosti. Vrednost NOAEL nam pomaga oceniti toksičnost sestavine pri ponovljivih odmerkih. S primerjavo vrednosti LD50 in NOAEL za posamezne KAS lahko le-te primerjamo po toksičnosti. KAS z višjimi vrednostmi LD50 in NOAEL so manj toksične, torej bolj varne.

4. Rezultati in razprava

51-tim naključno izbranim KI smo pregledali sestavo in določili, katere sestavine vplivajo na posvetlitev kože. Med KI je bilo 8 serumov, 34 krem, 2 maski, 1 korektor, 2 koncentrata, 1 eksfoliant, 1 loščilo in 2 tonika (graf 1). Sestava KI je bila napisana na ovojnini, ponekod na sekundarni, ponekod na primarni. Večina KI, ki smo jih pregledali, so namenjeni posvetlitvi kože, nekateri so namenjeni zaščiti pred soncem in hkrati vsebujejo KAS za posvetlitev kože oziroma sestavine, ki preprečujejo HP. Nekateri izdelki pa so kreme proti staranju kože, ki imajo poleg učinka proti staranju, tudi učinek na posvetlitev kože. Razmerje med temi KI lahko vidimo na grafu 2. V sončnih kremah se v povprečju nahaja 3.7 % KAS za posvetlitev kože, v 58.3 % sončnih krem se nahaja več kot 1 KAS za posvetlitev kože. V kremah proti staranju kože pa se v povprečju nahaja 1.5 % KAS, v 37.5 % krem proti staranju kože se nahaja več kot 1 KAS za posvetlitev kože.

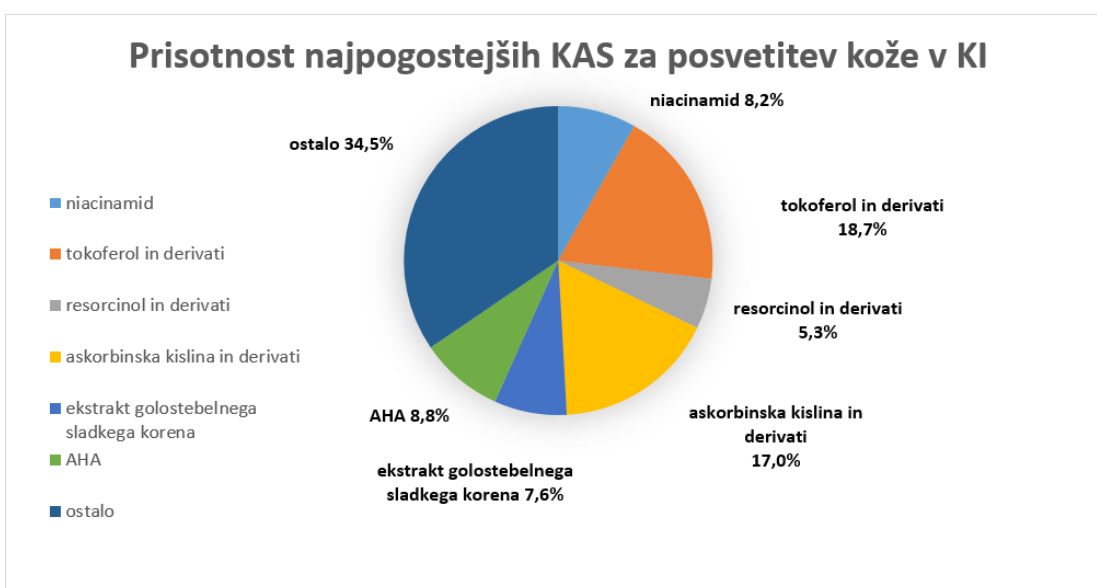


Graf 1: Tipi kozmetičnih izdelkov za posvetlitev kože.



Graf 2: Razmerje med proučevanimi KI, ki vsebujejo KAS za posvetlitev kože.

Po pregledu vseh sestavin izbranih KI smo ugotovili, da se je v izdelkih pojavilo 51 različnih KAS za posvetlitev kože, prikazane so v preglednici I. Najpogosteje prisotne KAS za posvetlitev kože v KI so prikazane na grafu 3. Najpogosteje uporabljeni aktivni sestavini so tokoferol in njegovi derivati ter askorbinska kislina in njeni derivati. Povprečno je v KI 3.3 KAS, v 16 KI je prisotnih 4 KAS ali več, to je pri 31.4 % KI. Med KAS najdemo 17 takšnih, ki so rastlinski ekstrakti, kar je 35.3 % vseh KAS. Antioksidativne lastnosti ima 44 KAS, kar je 86.3 % vseh KAS za posvetlitev kože, prisotnih v pregledanih KI.



Graf 3: Prisotnost najpogostejših KAS za posvetlitev kože v KI, ki smo jih analizirali.

Preglednica I: KAS za posvetlitev kože, njihova funkcija in prisotnost v pregledanih KI (9,19-30):

Kozmetično aktivne sestavine:	Funkcija:	Prisoten v KI (število):	Prisoten v KI (namen):
4-butilresorcinol	AO, posvetli ⁽²⁰⁾	4	SK, PS, PO
alfa lipojska kislina	AO ⁽¹⁹⁾	1	PO
arbutin	AO, posvetli ⁽²⁰⁾	3	SK,
askorbilglukozid	AO ⁽²⁰⁾	8	SK, PS, PO
askorbilpalmitat	AO ⁽²⁰⁾	8	SK,
askorbiltetraisopalmitat	AO ⁽²⁰⁾	2	PO
askorbinska kislina	AO (20)	4	PO
azelainska kislina	posvetli ⁽²¹⁾	1	PO
bis-etilheksilhidroksimetoksibezil malonat	AO ⁽²⁶⁾	2	SK
citronska kislina	AO ⁽⁹⁾	8	SK, PS, PO
dimetoksitolil propilresorcinol	AO ⁽²⁰⁾	2	PO
ekstrak čajevca (zeleni čaj, <i>Camellia sinensis</i>)	AO ⁽²⁰⁾	5	SK,
ekstrakt golostebelnega sladkega korena (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	posvetli ⁽²⁰⁾	10	SK, PS, PO
ekstrakt graha (<i>Pisum sativum</i>)	AO, protimirkobna ⁽²³⁾	1	PO
ekstrakt grozdja (<i>Vitis vinifera</i>)	AO ⁽²¹⁾	5	SK, PS, PO
ekstrakt korenin bajkalske čeladnice (<i>Scutellaria baicalensis</i>)	AO, posvetli, protivnetno ⁽²⁸⁾	3	SK, PO
ekstrakt korenine kurkume (<i>Curcuma longa</i>)	AO ⁽²¹⁾	1	PO
ekstrakt kvasa	AO, zaščitno delovanje ⁽²¹⁾	2	PO
ekstrakt listov Alojzijeve lilije (<i>Lilium candidum</i>)	posvetli ⁽²⁹⁾	5	SK, PO
ekstrakt listov gole bugenvileje (<i>Bougainvillea glabra</i>)	AO ⁽²⁰⁾	1	PS
ekstrakt listov rožmarina (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	AO ⁽²¹⁾	1	PO
ekstrakt lubja bora (<i>Pinus pinaster</i>)	AO, protivnetno ^(19, 20)	1	PO
ekstrakt murve	AO ⁽²¹⁾	2	PO
ekstrakt propolisa	AO ⁽²¹⁾	1	PO
ekstrakt pšeničnih kalčkov	AO, posvetli ⁽²⁰⁾	1	PO
ekstrakt sadeža fige (<i>Ficus carica</i>)	AO ⁽²⁷⁾	1	PO
ekstrakt <i>Saxifraga sarmentosa</i>	AO, posvetli ⁽²⁸⁾	1	SK
ekstrakt semen granatnega jabolka (<i>Punica granatum</i>)	AO ⁽²¹⁾	1	PO
ekstrakt semen <i>Strelitzia nicolai</i>	AO ⁽²²⁾	1	PO

ekstrakt <i>Spergularia rubra</i>	posvetli ⁽³⁰⁾	1	PO
ekstrakt vednozelenega gornika (<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>)	AO ⁽²¹⁾	5	SK, PO
glicirizinska kislina	AO ⁽²¹⁾	3	PO
glukozil hesperidin	AO ⁽²¹⁾	1	PO
heksil resorcinol	AO, probakterijsko ^(20, 21)	1	PO
izoflavoni soje	AO, posvetli ⁽²¹⁾	1	PO
kalijev metoksisalicilat	posvetli ⁽²⁰⁾	1	PO
mlečna kislina	eksfoliant, posvetli ⁽²⁴⁾	7	SK, PS, PO
linolejska kislina	AO ⁽²¹⁾	3	PO
magnezijevaskorbilfosfat	AO ⁽²⁰⁾	1	PO
natrijev metabissulfit	AO ⁽²⁰⁾	3	SK, PO
natrijevaskorbilfosfat	AO ⁽²⁰⁾	4	SK, PO
niacinamid	AO ⁽²¹⁾	14	SK, PO
pentaeritritil tetra-do-t-butil-hidroksihidrocineat	AO ⁽²⁰⁾	2	PO
polipeptid askorbinske kisline	AO ⁽²⁰⁾	1	SK
resveratol ferluat	AO ⁽²⁵⁾	1	PO
resveratrol	AO ⁽²⁰⁾	1	PO
tetraheksildecilaskorbat	AO ⁽²⁰⁾	1	PO
tokoferil acetat	AO ⁽²⁰⁾	18	SK, PS, PO
tokoferol	AO ⁽²⁰⁾	13	SK, PS, PO
tokotrienol	AO ⁽²¹⁾	1	PO
ubikinon	AO ⁽²⁰⁾	2	SK, PO

AO= antioksidant

SK= sončna krema

PS= krema proti staranju kože

PO= posvetlilna krema

4.1. Toksikološki profil KAS za posvetlitev kože

Odločili smo se, da bomo pregledali varnost uporabe in toksikološki profil šestih KAS za posvetlitev kože, ki so bile v obravnavanih KI najbolj zastopane. To so bile tokoferol in derivati 18.7 %, askorbinska kislina in derivati 16.4 %, alfa hidroksi kisline (mlečna in citronska) 8.8 %, niacinamid 8.2 %, ekstrakt golostebelnega sladkega korena 7.6 % ter resorcinol in derivati 5.3 %. Pregled teh KAS navajamo glede na njihovo zastopanost v KI, od najbolj zastopane tokoferola in derivatov do najmanj zastopane resorcinola in derivatov. Pregledali smo razpoložljive podatke o draženju, preobčutljivosti, genotoksičnosti, kancerogenosti, fototoksičnosti, dermalni absorpciji, akutni toksičnosti, toksičnost po ponovljivih odmerkih, teratogenost in reproduktivno toksičnost.

4.1.1. Tokoferol in derivati

Tokoferolacetat (TA) je najbolj pogosto uporabljena oblika vitamina E v KI za kožo. Njegovo delovanje je antioksidativno. Za antioksidativno delovanje tokoferola je odgovorna hidroksilna skupina, ki lahko odda vodikov atom reaktivni spojini. Na pigmentacijo kože pa vpliva z oviranjem membranske peroksidacije lipidov in povečanjem intercelularne vsebnosti glutationa. Zaradi nestabilnosti tokoferola pri sobni temperaturi, se v KI večinoma pojavljata TA in tokoferolsukcinat (TS). Alfa-tokoferol in njegovi derivati so bili predmet obravnavanja že uredbe (ES) št. 1223/2009, ki se navezuje na kozmetične izdelke (14,15,31).

Znanstveni odbor za kozmetične in neprehrambne proizvode (SCCNFP) je pregledal varnost uporabe alfa-tokoferol acetata v KI in njegove ugotovitve so navedene v nadaljevanju (31).

Akutna toksičnost

Akutna peroralna toksičnost alfa-tokoferola je zelo nizka. Z vrednostmi LD50 sintetičnega alfa-tokoferola in alfa-TA, višjimi od 2000 mg/kg tm za miši, zajce in na novo skotene ter odrasle podgane (32).

Vrednosti LD50 za dermalno akutno toksičnost so > 3 g/kg tm za podgane (33).

Študije ponavljajočih odmerkov

Skupini 10 samcev in 10 samic podgan so v prehrano dajali 0, 1, 3 ali 5 % mešanice tokoferolfosfatov (MTF), sestavljene iz tokoferilfosfata, ditokoferilfosfata, tokoferola, vode in fosforne kisline. Opaženih ni bilo nobenih toksičnih učinkov. Opazili so prisotnost tujega materiala v sinusoidnih makrofagih, ki so bile povezane z blagimi vnetnimi spremembami v mezenteričnih bezgavkah pri samcih in samicah. Tuj material je bil identificiran kot tokoferilfosfat. Tuji materiali so bili prisotni tudi v tankem črevesu pri srednjih in visokih odmerkih. NOAEL je 1 % MTF v prehrani (33).

Mutagenost, genotoksičnost in kancerogenost

Ni dokazov o genotoksičnem in mutagenem potencialu TA (32).

Več študij na miših, ki so imele topikalno nanosen alfa-tokoferol in/ali njegove estre, je dalo dokaze o foto-zaščitnih lastnostih tokoferola. Vendar pa so opazili, da esterificirane oblike tokoferola ne nudijo enake zaščite ali pa celo nimajo zaščitnega učinka. V drugi študiji so poročali, da TA in TS povečata fotokancerogenezo pri miših, medtem ko je pri enakem tretmaju alfa-tokoferol deloval zaščitno. Tega zaključka niso podprli pri SCCNFP-ju, Svet Evrope pa je zahteval dodatne študije za razjasnitev vprašanja o acetatnih estrih in povezavi s fotokancerogenostjo.

Tokoferol v večini primerov deluje zaščitno. V eni izmed študij pa so poročali, da deluje celo kot promotor tumorja (31,32).

Tokoferol, TA, TS in mešanica dioleiltokoferilmetilsilanola ter oleinske kisline niso mutagene. Tokoferol in TS ne vplivata na UV inducirano mutagenost (33).

Reproduktivna toksičnost, razvojna toksičnost in teratogenost

Tokoferol ni teratogen za miši. Prav tako niso bili opaženi neželeni učinki tokoferola na reproduktivno funkcijo pri ljudeh, pri peroralnih odmerkih do 2 % v hrani (32).

Peroralna uporaba tokoferola, tokoferilsukcinata in tokofersolana v koncentracijah do 75 mg/dan ne povzroča reproduktivne in razvojne toksičnosti na podganah. Prav tako tudi TA v koncentracijah ≤ 1.6 g/kg/dan ne povzroča reproduktivne in razvojne toksičnosti pri podganah, zajcih, miših in hrčkih (33).

Preobčutljivost

TA v testu na morskih prašičkih ni povzročil preobčutljivosti, lahko pa povzroči preobčutljivost na odprtem epikutanem testu. V kliničnih testih ni povzročil preobčutljivosti. Tokoferol in njegovi derivati so pogosto uporabljeni v topikalnih KI, vendar so poročila o neželenih učinkih, kot so alergijske reakcije in draženje kože, redka. Podobno so tudi klinične študije pokazale, da je njihova uporaba v topikalnih KI varna. V primerih poročil najdemo zapise, da so se po topikalni aplikaciji vitamina E pojavili kontaktni dermatitis, kontaktna urtikarija, multiformni eritem in ekcem. Kontaktni dermatitis se je večinoma pojavil pri formulacijah, ki so vsebovale tokoferil linoleat. Reakcija naj bi bila posledica oksidacijskih produktov vitamina.

V testih z obliži (patch test) je imelo 0.61 % prostovoljcev reakcijo na alfa-tokoferol. Študija je zaključila, da je alfa-tokoferol relativno redek kontaktni alergen (32).

Glede na povzetke, ki jih je pripravila ECHA, TA ne povzroča preobčutljivosti pri ljudeh (33).

Dermalna absorpcija in draženje kože

Raziskave na ljudeh so pokazale, da se topikalno nanosen alfa-TA manj absorbira v epidermalne in dermalne plasti kože kot alfa-tokoferol. V manjši meri tudi hidrolizira, tako da je prisoten tudi prosti alfa-tokoferol (31).

Tokoferol, TA in TS ne povzročajo draženja oči in kože (32).

Študije na zajcih so pokazale, da TA ne draži kože. Pod 2.5 cm² semiokluzivni obliž so aplicirali 0.5 mL raztopljenega TA. Kožo so analizirali 24, 48 in 72 ur po aplikaciji, na koži niso opazili eritema in edema (33).

Fotozaščita

V nedavnih študijah so dokazali, da obstaja variabilnost v stopnji fotozaščite različnih spojin tokoferola pri apliciranju 5 % disperzije v nevtralnem vehiklu. Zaradi omejene stabilnosti tokoferola pri sobni temperaturi se v KI uporabljata alfa-TA in alfa-TS. Prosti alfa-tokoferol je pri topikalni aplikaciji pokazal signifikantno zmanjšanje pojavljanja tumorjev pri miškah, alfa-TA pa tega zmanjšanja ni pokazal. Preprečevanje foto-poškodb DNA s tokoferolom in sončnimi kremami je torej povezano z obliko tokoferola. Alfa-TA se obnaša kot manj močan zaviralec (10-krat manj) tvorbe ciklopirimidinskih dimerov kot prosti alfa-tokoferol (31).

Mnenje SCCNFP

Na podlagi trenutnega znanja SCCNFP meni, da alfa-tokoferolacetat ne predstavlja nevarnosti za zdravje potrošnikov in zato ne predlaga nobenih omejitev ali pogojev za uporabo alfa-tokoferol acetata v kozmetičnih izdelkih (31).

Mnenje CIR

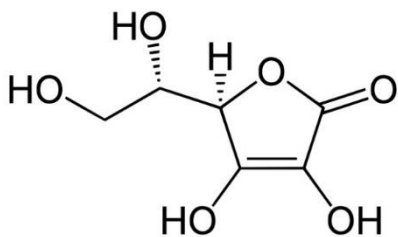
Strokovna komisija za pregled kozmetičnih sestavin (CIR) je ugotovila, da so v sedanjem načinu uporabe in koncentracijah varne naslednje sestavine: askorbiltokoferilacetat, askorbiltokoferilmaleat, dioleiltokoferilmetilsilanol, kalijevaskorbiltokoferilfosfat, natrijevtokoferilfosfat, tokoferol, tokofersolan, tokoferilacetat, tokoferillinoleat, tokoferiloleat, tokoferilnikotinat, tokoferilfosfat, tokoferilsukcinat in tokotrienol (33).

4.2. Askorbinska kislina in njeni derivati

Tako askorbinska kislina kot njeni derivati so zelo pogosto uporabljene sestavine kozmetičnih izdelkov. Zaradi slabe stabilnosti, difuzije v kožo in hidrofilnih lastnosti AA se uporabljajo njeni derivati. S sintezo derivatov se povečata stabilnost in tudi absorpcija.

4.2.1. Askorbinska kislina

Uporablja se v KI v koncentracijah do 2 %. Deluje antioksidativno preko reakcije z radikali, ki nastanejo zaradi UV-sevanja. Strukturna formula askorbinske kisline je prikazana na sliki 4. AA deluje kot inhibitor tirozinaze, ovira nastanek pigmenta na različnih korakih sinteze melanina, ima reducirajoč učinek na o-kinone in oksidira melanin (7).



Slika 4: Strukturna formula AA (34).

Metabolizem

Hitro se izloča in presnavlja. Pri podganah se od 19 do 29 % injicirane askorbinske kisline pretvori v CO₂, 0.4 % pa se izloči kot oksalat v 24 urah. Pri ljudeh se polovica aplicirane količine izloči z urinom in tvorbo oksalata, ostalo se izloči kot CO₂ (35).

Peroralna toksičnost

V kratkotrajnih študijah na podganah niso opazili nobenih učinkov pri peroralnem odmerku 6.5 g/kg telesne mase, apliciranem 10 tednov. Odmerek 27.3 g/kg tm, apliciran 4 tedne, pa je povzročil 77 % smrtnost.

V študijah na ljudeh aplikacija 1000 mg/dan tri mesece ni imela neželenih učinkov. Pri odmerku 6000 mg/dan za 400 dni pa so se pojavili: slabost, bruhanje, diareja, glavoboli, utrujenost, izpuščaji na koži in moten spanec. V majhnih odmerkih ima AA diuretični učinek (35).

Mutagenost

V *in vitro* testih na celicah sesalcev AA povzroča lomljenje in izmenjavo kromosomov v celicah jajčnikov hrčkov. Povzroča od odmerka odvisno povečanje sestrške kromatoidne izmenjave v celicah jajčnikov hrčkov in človeških limfocitih v koncentracijah od 10⁻⁴ do 10⁻² M.

Rezultati različnih testov na bakterijah in na celicah sesalcev kažejo, da lahko ima askorbinska kislina komutageni ali antimutageni učinek (35).

Kancerogenost

AA ni kancerogena v dolgoročnih testih na živalih. Dvoletna študija peroralne aplikacije na podganah z odmerki od 0, 1000, 1500 in 2000 mg/kg tm AA ni imela nobenih učinkov na hematologijo, sestavo urina, aktivnost encimov v krvi ali delovanja ledvic in jeter ter ni povzročila nobenih makroskopskih ali mikroskopskih lezij na organih. Biološki test kancerogenosti z administracijo AA v prehrano podgan in miši v odmerkih 25000 in 50000 ppm za 103 tedne je pokazal, da AA ni ne toksična ne kancerogena. AA lahko zavira ali spodbuja eksperimentalno kancerogenost. Še posebej pa zmanjšuje pojavnost kožnih tumorjev, povzročenih z UV-sevanjem (35).

Teratogenost

AA ni teratogena in ni toksična za fetus.

V reproduktivni študiji na treh generacijah morskih prašičkov ni bilo opaziti nobenih razlik v velikosti mladičev in njihovi sposobnosti preživetja. V peroralni študiji na miškah in podganah niso opazili znakov toksičnosti za mater, teratogenosti in fetotoksičnosti. Študijo so izvajali od 6. do 15. dneva trajanja brejosti in od 0. do 21. dneva po skotitvi mladičev (35).

Koža in mukozne membrane

AA koža in mukozne membrane dobro prenašajo, AA ni senzibilizator. V testu draženja oči na zajcih je aplikacija 0.1 mL 30 % vodne raztopine AA, vbrizgane brez izpiranja, povzročila rahlo do natančno opredeljeno rdečino, ki se je povrnila v normalno stanje v 72 urah. Roženica in iris nista bili prizadeti.

V testu draženja kože so na pobrit zajčji hrbet aplicirali 0.5 mL 30 % raztopine AA z okluzijo, nastal je komaj zaznaven eritem, ni bilo vidnega edema (35).

Varnost

AA je minimalno toksična, ni dražilna in ne povzroča senzibilizacij. Hitro se metabolizira in izloča. Deluje mutageno v nekaterih sistemih, v drugih sistemih pa deluje antimutageno. Lahko interagira z DNA, inhibira celično transformacijo, v vinski mušici povzroča mutacije, v celicah sesalcev povzroča kromosomske poškodbe, vendar ni aktivna v bakterijskih celicah in v *in vivo* testih. Ni kancerogena za živali, lahko inhibira ali spodbuja eksperimentalno kancerogenezo. Nima učinkov na reprodukcijo, ni ne teratogena ne toksična za fetus. V KI lahko prepreči tvorbo prostih radikalov in lahko inhibira nastanek nitrosamina. Dnevni odmerek za ljudi, ki ga priporoča Ameriški urad za hrano in zdravila (FDA), je 45 mg/dan za odrasle. AA so v po mnenju znanstvenega odbora za kozmetologijo SCC leta 1977 uvrstili v klasifikacijo A – vsebuje sestavine, za katere imamo popolne podatke in ne predstavljajo nevarnosti za zdravje. Takšne spojine se lahko uporabljajo v KI za naveden namen v koncentracijah, ki ne presegajo določenih omejitev (35).

4.2.2. Etri in estri askorbinske kisline

Ocenili so varnost 7 etrov/estrov askorbinske kisline: tetraheksildecilaskorbat, askorbilizostearat, askorbillinoealat, askorbiltetraisopalmitat (ATIP), askorbilpalmitat (AP), askorbildipalmitat (AdP) in askorbilstearat (AS). Te spojine v KI delujejo kot: AO, zaščita in nega za kožo, dišave, sredstva za posvetlitev kože. Te spojine so alkilirani ali acilirani derivati AA (36).

Dermalna penetracija

V *in vitro* študiji penetracije z 10 % AP in 12 % magnezijevimaskorbilfosfatom so ugotovili, da nobeden od estrov ni signifikantno povečal koncentracije AA v prašičji koži. Navedeno je, da čeprav AP zlahka vstopa v kožo, je najverjetneje njegova pretvorba v AA neučinkovita. Prašičjo kožo so uporabili v pol-okluzivni komori, vsako testno substanco pa so nanесли na kožo za 24 ur. Analizirali so popolno debelino (6 mm) vzorcev biopsije. V drugi *in vitro* študiji, izvedeni v Franzovih difuznih celicah na prašičjih ušesih so ugotovili, da je AP v veliki večini penetriral v kožo, predvsem v *epidermis*. V študiji na zajcih so testirali 6 različnih olje v vodi (O/V) formulacij krem z 4 % AdP. Absorpcija AA se je povečala pri formulacijah krem, ki so vsebovale razvejane estre maščobnih kislin namesto naravnih olj.

V študiji na ljudeh so na podlaktnico prostovoljcev aplicirali različne gele, eden od njih je vseboval AP. Gel so na kožo aplicirali 45 minut, nato so odstranili *stratum corneum* z uporabo 12 trakov transparentnega traku. Poizkus so ponovili trikrat, med vsako ponovitvijo sta bila 2 tedna okrevanja. Ugotovili so, da 45 minut po aplikaciji AP penetrira v *epidermis*, prisoten je bil vse do 10. traku, ki so jih prilepili na kožo in z njimi postopoma odstranjevali plasti kože. Na vsakem od 12 trakov so določili koncentracijo AP. Procentualno so na trakovih našli več kot 90 % AP (36).

Absorpcija, distribucija, metabolizem in izločanje

Ugotovili so, da je izločanje AA v urinu večje v urah od 0 do 24 kot pa v 24 do 48. Študijo so izvedli na morskih prašičkih, katerim so peroralno aplicirali AP in AdP. Določili so količine obeh v urinu, jetrih, krvni plazmi in nadledvični žlezi. Izločanje urina so nadzorovali 48 ur.

Izvedli so študijo na podganah za ugotovitev pojava hidrolize AP v možganskem tkivu. Podganam so injicirali v notranjo karotidno arterijo odmerek 75 mg AP. 15 minut po

aplikaciji so podgane ubili in možgansko tkivo ekstrahirali v mediju kloroform/metanol ter ekstrakt kromatografirali s tankoplastno kromatografijo. Rezultati so pokazali, da hidroliza AP v možganih skoraj ni potekala, prodril je tako preko krvno možganske pregrade in bil v možganskem tkivu kot intaktna molekula. V študiji niso naredili nobenega zaključka v zvezi s količino AP, ki je prešla skozi krvno možgansko pregrado, in frakcijo, ki je bila podvržena hidrolizi v možganih (36).

Akutna peroralna toksičnost

V akutnih peroralnih študijah na podganah in miših ni bilo toksičnih učinkov. Z uporabo *in silico* metode so določili, da sta AP in AS zmerno do nekoliko strupeni spojini (32). V peroralni akutni študiji na podganah, ki so jim aplicirali odmerek 2000 mg/kg ATIP, niso ugotovili nobenih znakov toksičnosti. Po aplikaciji ATIP podganam sta sledila 15-dnevno opazovalno obdobje in obdukcija. V študiji nobena žival ni umrla, prav tako pri obdukciji ni bilo opaženih nobenih znakov toksičnosti za organe. Določili so enkratni odmerek, ki povzroči po določenem času smrt 50 % poskusnih živali: LD50 > 2000 mg/kg (36).

Za 15 % suspenzijo AdP, testirano na podganah, so določili LD50 > 5 g/kg. Pri testiranju AS na podganah ni bilo škodljivih učinkov pri koncentracijah od 100 do 3000 mg/kg (36).

AP so testirali na samicah miši, z njim so jih hranili 63 dni, v odmerku do 3000 mg/kg/dan niti nobenih toksičnih učinkov (36).

V dvoletni študiji na podganah, katerim so 2 in 5 % AP (424 in 1060 mg/kg tm) administrirali v hrano, so ugotovili, da se je stopnja rasti zmanjšala pri višjem odmerku. Dve od osmih živali sta po devetih mesecih administracije dobili oksalatne kamne. Nobenih učinkov niso opazili pri odmerku 2 % AP (35).

Kronična toksičnost

Z uporabo *in silico* metode so določili največjo koncentracijo, ki ne povzroča nobenih sprememb (NOEL – no observed effect level). Za AP je NOEL= 916 mg/kg/dan in za AS je NOEL= 834 mg/kg/dan.

V študijah kronične peroralne toksičnosti za AP (0.25 % v hrani) na podganah v odmerkih od 125 do 1000 mg/kg/dan niso nastali toksični učinki. Pri odmerkih 2500 mg/kg/dan in več se je zmanjšala telesna masa. Pri 2 od 8 podganah, ki so prejemale odmerek 2500 mg/kg/dan, je nastala tvorba oksalatnih kamnov.

V študijah kronične peroralne toksičnosti za AP (2 % in 5 % v prehrani) na podganah, ki so jih hranili 9 mesecev, so pri 5 % odmerku podgane zaostajale v rasti, pri 2 % odmerku so zaznali rahlo zaostajanje v rasti. Pri 2 od 10 podgan so se pojavili kamni mehurja in hiperplazija epitelija mehurja. Pri 1 podgani se je pojavil nefritis.

V študijah kronične peroralne toksičnosti za AP (2 % in 5 % v prehrani) na podganah, ki so jih hranili 2 leti, so podgane, ki so prejemale večji odmerek, zaostajale v rasti. Po 9 mesecih so se pojavili oksalatni kamni pri 2 od 8 podganah (36).

Študije genotoksičnosti

In vitro so izvajali test genotoksičnosti ATIP z Amesovim testom na sevih bakterij *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* z in brez metabolne aktivacije. Testirali so odmerke do 1000 µg/ploščo. Testirana snov ni bila genotoksična z ali brez aktivacije v odmerkih, ki so bili testirani.

V *in vivo* testih z uporabo *in silico* metode so predvideli, da je AP genotoksična spojina, medtem ko AS ni genotoksičen (36).

Študija kancerogenosti

Študija kancerogenosti so izvedli za AP na skupinah 6 samic miši, ki so prejemale 2 % AP v hrano. Ena skupina 6 samic miši je prejela subkutano injicirano spojino 10 mg/kg azoksimetanola (inducira žarišča displazije) v fiziološki raztopini enkrat tedensko 6 tednov. Druga skupina 6 samic miši pa je prejela subkutano injicirano fiziološko raztopino po istem postopku. AP ni pokazal toksičnosti. Subkutana administracija azoksimetanola je pri miših, ki so prejemale le azoksimetanol povzročila povečano proliferacijo epidermalnih celic in tvorbo induciranih žarišč displazije. Induciranih žarišč displazije niso opazili pri kontrolni skupini miši in pri skupini miši, ki je prejemale AP. Test AP pri samicah miši je pokazal, da AP ni toksičen (36).

Študije razvojne in reproduktivne toksičnosti

Z uporabo *in silico* metode so napovedali, da AP in AS nista reproduktivno toksična. Uporabili so programsko opremo Toxtree, TEST, Admet Predictor in OECD QSAR toolbox (36).

Študije dermalne preobčutljivosti

Maksimizacijski test pri morskih prašičkih so izvedli za oceno preobčutljivostnega potenciala ATIP. Nerazredčeno testno substanco so aplicirali (epidermalna aplikacija in intradermalna injekcija) morskim prašičkom. Pri 0.1 mL intradermalni injekciji so reakcije ocenili 24 in 48 ur kasneje. Pri epidermalni aplikaciji so netkan obliž, ki je vseboval 0.5 mL testirane substance, nanесли na bok živali. Preobčutljivost so opazili pri 8 od 10 živali, torej je stopnja preobčutljivosti bila 80 %, in spojino so označili za močni senzitizer.

Preobčutljivostni potencial ATIP so testirali tudi pri ljudeh. Na kožo so nanесли okluziven obliž testne substance za skupno devet 24-urnih aplikacij. Reakcije so ocenjevali 24 in 48 ur po aplikaciji. Med študijo niso opazili nobenega neželene ga učinka. V tej študiji so ugotovili, da ATIP ni senzitizer (36).

Testirali so tudi preobčutljivost AP na prostovoljcih, ugotovili so, da koncentracije od 1 do 5 % ne povzročajo preobčutljivosti (36).

Študije dermalnega draženja

Potencial draženja askorbiltetraisoralmimata so testirali na zajcih. 0.5 mL testne substance so aplicirali na en bok zajca za 4 ure pod semiokluziven obliž. Po aplikaciji so živali opazovali do 72 ur. Kakršno koli draženje je bilo reverzibilno v 2 dneh. Substanca je klasificirana kot ne dražilna (36).

Aplikacija 10 % vodne raztopine AP pod okluzijo za 24 ur na intaktni pobruti koži albino zajcev je pokazala, da AP ni dražilen. V 24-urni okluziji na intaktni pobruti koži zajcev ni dražilen niti nerazredčen AdP (35).

Draženje oči

10 % vodna raztopina AP, ki so jo aplicirali v konjunktivno vrečko oči albino zajcev, ni bila dražilna. Nerazredčen AdP apliciran v konjunktivno vrečko oči albino zajcev, pa je pokazal minimalno draženje oči (36).

Zaviranje napredovanja tumorja

Učinek AP na indukcijo aktivnosti epidermalne ornitinske dekarboksilaze, epidermalne hiperplazije, kožnega edema in napredovanje kožnega tumorja z 1,8-dihidroksi-3-etil-9-antron so testirali na miših ženskega spola. Natančen mehanizem, s katerim delujejo

promotorji tumorja, je nejasen. Študije so izvedli tako, da so miši izpostavili/dermalno ter aplicirali induktor tumorjev krisarobin z in brez AP. Nato so primerjali pojavnost tumorjev, edemov, hiperplazije pri eni in pri drugi aplikaciji. Avtorji so zaključili, da AP zavira aktivnost ornitinske dekarboksilaze (ODC), edema, epidermalne hiperplazije in napredovanje kožnih tumorjev, povzročenih s krisarobinom (36).

Klinične študije, primeri poročil

V dveh primerih poročil o uporabi KI je bil ATIP pozitiven v testu preobčutljivosti pri uporabi anti-aging kreme, ki je vsebovala ATIP, in pri uporabi vlažilne nesteroidne kreme z ATIP za tretma kože z atopijskim dermatitisom (36).

Svet Evrope in strokovni odbora za aditive in živila JECFA sta ugotovila, da je sprejemljiv dnevni vnos (ADI) za AP, askorbilstearat ali vsota obeh od 0 do 125 mg/kg tm (35).

4.3. Alfa hidroksi kisline – mlečna in citronska kislina

Alfa hidroksi kisline (AHA) imajo dolgo zgodovino uporabe v dermatoloških pripravkih in že kar nekaj časa tudi v kozmetičnih izdelkih. Zaradi zaskrbljenosti dermalne in sistemske varnosti uporabe izdelkov s temi spojinami so te uvrščene v Prilogo III kozmetične uredbe (ES) št. 1223/2009 (seznam snovi, ki jih kozmetični izdelki ne smejo vsebovati, razen ob upoštevanju določenih omejitev in pogojev). AHA so karboksilne kisline substituirane s hidroksilno skupino na alfa ogljiku. V KI se najpogosteje uporabljata glikolna in mlečna/laktična kislina. Glikolna kislina je alfa-hidroksi očetna kislina, mlečna kislina pa je alfa-hidroksi propionska kislina. Druge AHA, ki se uporabljajo v KI, so citronska kislina, 2-hidroksioktanska kislina in 2-hidroksidekanojska kislina. AHA je velikokrat v KI za piling kože. KI, ki vsebujejo AHA, zmanjšajo gubanje kože, izenačujejo kožni ten, mehčajo kožo, popravljajo poškodbe, ki nastanejo zaradi sonca, povečajo elastičnost in čvrstost kože. Delujejo kot eksfolianti, so učinkovite pri pospeševanju obnovitve celic. Izdelki z AHA so varni za uporabo v koncentracijah do 10 % pri pH-vrednosti 3.5. Formulirani morajo biti tako, da se izognemo povečani občutljivosti na sonce, ali z navodili, ki narekujejo dnevno uporabo sončnih krem. Profesionalni KI za salone pa lahko imajo sestavine v koncentracijah do 30 % pri pH-vrednosti 3.0. Namenjeni so kratkotrajni uporabi, ki ji sledi temeljito spiranje iz kože, s temi KI rokuje usposobljeno osebje, ki strankam podajo navodila za vsakodnevno uporabo zaščitnih faktorjev po tretmaju z AHA (37).

Reproduktivna in razvojna toksičnost

V študiji reproduktivne in razvojne toksičnosti so mišim od 6. do 15. dneva brejosti dnevno v hrano aplicirali 570 mg/kg mlečne kisline. Skupina kontrolnih miši je dobila destilirano vodo. Vse živali so bile žrtvovane 18. dan brejosti. V primerjavi s kontrolnimi živalmi niso opazili nobene razlike v telesni masi. Opazili pa so, da se je poraba hrane zmanjšala pri testnih živalih v primerjavi s kontrolami. V primerjavi s kontrolnimi živalmi je bila manjša relativna masa jeter. Edini opažen učinek na fetus je bilo povečanje zakasnele osifikacije parientalnih kosti (38).

Preobčutljivost kože

V maksimizacijskem testu na morskih prašičkih, katerim so intradermalno aplicirali 0,2 % mlečne kisline. Nato so topikalno aplicirali 50 % mlečne kisline. Ugotovili so, da mlečna kislina ni senzibilizator (38).

Draženje kože

V študiji na skupini 100 preiskovancev so uporabili 0.5 % mešanico glikolne in mlečne kisline na koži obraza, enkrat na dan 6 tednov. 26 % preiskovancev je zaznalo draženje, večinoma srbenje in zbadanje. Raziskali so tudi odvisnost zbadanja v koži od koncentracije mlečne kisline, in sicer pri koncentracijah 2.5 %, 5 %, 10 % in 20 %. Ugotovili so, da je plato dosežen pri koncentraciji 10 % in se pri 20 % le še minimalno poveča. Podatki o odvisnosti draženja kože od pH-vrednosti kažejo na izrazito zmanjšanje draženja ob naraščanju pH-vrednosti od 3 do 7. Testiranja so pokazala, da 13 % glikolna kislina s pH 4.4 manj draži kot 8 % glikolna kislina s pH 3.25. Podatki kažejo, da je pH najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na draženje izdelkov z AHA, bolj pomemben kot koncentracija AHA. Vendar pa poleg pH in koncentracije lahko na draženje vplivajo še drugi dejavniki. V Nemčiji so na podlagi podatkov priporočili, da se glikolna kislina uporablja v izdelkih v koncentracijah do 4 % in $\text{pH} \geq 3.8$ in mlečna kislina do koncentracije 2.5 % in $\text{pH} \geq 5.33$ (37).

Učinki AHA na transepidermalno izgubo vode (TEWL)

V kliničnem testiranju z 12 % amonijevega laktata in 8 % glikolne kisline pri desetih osebah z zmerno do hudo ihtiozo/kserozo nog so testirali učinke AHA na TEWL. Zdravljenje se je začelo po dvotedenski odsotnosti aplikacij izdelkov na preiskovanem delu nog. Sledili so

trije tedni aplikacij testirane učinkovine dvakrat dnevno, z enotedenskim obdobjem okrevanja. Opazili so sprejemljive ravni TEWL, to pomeni malo ali nič spremembe v barierni funkciji *stratum corneuma*. Tudi iz drugih primerov testiranj je razvidno, da AHA ne ogrožajo integritete barierne funkcije *stratum corneuma* (39).

AHA in občutljivost kože na UV-sevanje

S preiskavo učinka topikalnih tretmajev z AHA na fototoksičnost so ugotavljali, ali 4-tedenski tretmaji z različnimi topikalnimi izdelki spremenijo odziv kože na UV-sevanje. Spremljali so parameter tvorbe celic s sončnimi opeklinami (SBC) in spremembe v minimalnem odmerku pri katerem se pojavi eritem (MED). Tretmaji so bili uporabljeni na sredini hrbta (5 x 10 cm), 1x dnevno 7 dni, 4 tedne zapored. Naneseni so bili: vehikel s pH-jem 3,5 in tri različne formulacije z 2,5 %, 4 % in 5 % glikolno kislino s pH-jem 3.5. Odmerek je znašal 100 mg na testno območje to je približno 2 mg/cm². Vrednosti MED-preiskovancev so bile predhodno določene na več lokacijah kože, ponovno so bile določene po 4-tedenskem tretmaju. Približno 15 minut po zadnjem tretmaju so območje s premerom 1 cm izpostavili enkratnemu odmerku 1.5 MED iz solarnega stimulatorja. Za določitev SBC so odvzeli biopsijo kože. Avtorji študije menijo, da vsi tretmaji razen vehikla povzročijo značilno zmanjšanje MED v primerjavi s kontrolnim mestom brez tretmaja. V formulacijah s koncentracijo glikolne kisline v območju od 2.5 do 4 % so opazili povečan parameter SBC. Zaradi prevelikih standardnih odklonov podatkov, pridobljenih v tej študiji, ne moremo ničesar zaključiti.

Izvedli so 12-mesečno študijo za določitev vpliva topikalno nanesene glikolne kisline v kombinaciji z zaščito pred soncem (SPF 15) na fotokarcinogenezo pri golih miših. Topikalno so jim nanesli glikolno kislino (4 % ali 10 %, pH 3.5) in zaščito pred soncem (SPF15) so jih izpostavili simuliranem UV-sevanju. Nanos formulacij in izpostavitve sevanju je sledil 5 dni na teden, 40 tednov. Od tedna 1 pa do tedna 52 so vsak teden zbirali informacije o kožnih tumorjih za vsako miš. Ocenili so razširjenost tumorjev in čas potreben za njihov nastanek. V primerjavi s kontrolami (miši, ki niso imele nanesene glikolne kisline in ne zaščite pred soncem) so odkrili dokaz o preprečevanju nastanka tumorja pri obeh koncentracijah glikolne kisline in zaščite pred soncem. Iz pridobljenih rezultatov so zaključili, da topikalno nanašanje glikolne kisline skupaj z zaščito pred soncem ne poveča fotokarcinogeneze. Vendar pa v študiji niso uporabili kontrole samo z zaščito pred soncem (39).

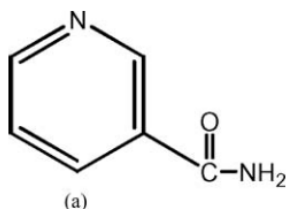
Mnenje SCCNFP

SCCNFP se je predhodno strinjal, da dostopni podatki o potencialni okvari barierne funkcije po nanosu AHA kažejo, da ni povečane TEWL in dermalne penetracije referenčnih spojin po dolgotrajni uporabi AHA (do 10 % in pri pH 3.5). Pomisleki so se pojavili pri učinkih, ki se pojavijo pri kratkotrajni uporabi, preden se koža prilagodi. Glede na obnovo kože bi največji učinek (če sploh) na kožno bariero moral biti viden v 8 do 14 dneh. Eksperimentalni podatki, pridobljeni v študijah, ne zadostujejo za ustrezno vrednotenje penetracije snovi v kožo. Predlagajo, da se glikolno kislino lahko varno uporablja v koncentracijah do 4 % in $\text{pH} \geq 3.8$, mlečno kislino pa do koncentracije 2.5 % in $\text{pH} \geq 5$. Priporočljivo je, da so na izdelkih z AHA opozorila: izogibanje stika z očmi, izogibanje/zaščita pred UV-sevanjem med uporabo teh izdelkov (37,39).

4.4 Niacinamid

Niacinamid je heterociklični aromatski amid. Strukturna formula niacinamida je prikazana na sliki 5. Niacinamid je del nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) in je komponenta koencima NAD (40).

Delovanje niacinamida temelji na zaviranju prenosa melanosomov od melanocitov do keratinocitov. V študijah so dokazali, da zmanjša HP lezije in posvetli kožo, zmanjša produkte oksidacije kolagena in izboljša s staranjem povezano rumeno obarvanje kože (8).



Slika 5: Niacinamid – strukturna formula (40)

Akutna toksičnost

V študijah peroralne toksičnosti so določili peroralni LD50 za niacinamid za miši in podgane ~2100 mg/kg in ~2700 mg/kg, kar je 2x bolj toksično kot LD50 za niacin. Kratkoročne študije peroralne akutne toksičnosti niso pokazale nobenih ireverzibilnih učinkov (40).

V študijah parenteralne toksičnosti so določili LD50 za miši in podgane ~2900 mg/kg in ~3500 mg/kg, kar je spet 2x bolj toksično kot niacin. Kratkoročne študije parenteralne toksičnosti niso pokazale nobenih ireverzibilnih učinkov (40).

V študijah dermalne toksičnosti so določili LD50 za dermalno toksičnost pri zajcih po 24 urni izpostavitvi niacinamidu in znaša $> 2\text{g/kg tm}$ (40).

Subkronična peroralna toksičnost

Po aplikaciji 1 % ali 2 % koncentracije niacinamida za 30 ali 40 dni se je zmanjšala rast podgan, večje zmanjšanje so opazili pri niacinamidu. Skoraj popolna inhibicija rasti se je pojavila pri podganah, ki so prejemale 1 % niacinamida. Zamaščena jetra so se pojavila tako po aplikaciji niacinamida kot niacina. V študiji na zajcih in morskih prašičkih niacinamid ni bil toksičen. Toksičnost, ki se je pojavila pri podganah, je lahko posledica sinteze in ekskrecije N-metilnikotinamida. V dodatnih študijah so ugotovili, da se presežek maščobe v jetrih pojavi le, če je v kombinaciji z visokim vnosom niacinamida bila zaužita hrana z visoko vsebnostjo maščob (40).

Genotoksičnost in kancerogenost

Niacinamid in niacin so testirali na *Saccharomyces cerevisiae* in *Salmonella typhimurium* z in brez metabolne aktivacije. Koncentracije, uporabljene v študiji, so bile 5, 0.5, 0.05, 0.005 in 0.0005 %. Tako niacin kot niacinamid nista pokazala nobene mutagene aktivnosti (40).

Niacinamid sam po sebi ni kancerogen, lahko pa modulira indukcijo tumorjev s pomočjo znanih kancerogenov, saj se ob njihovi prisotnosti obnaša kot kokancerogen. Na primer niacinamid v kombinaciji s streptozotocinom ali heliotrinom povzroča tumor trebušne slinavke. Po drugi strani pa v nekaterih drugih primerih lahko zmanjša kancerogen učinek, na primer zmanjša pojavnost tumorjev črevesja in mehurja, ki jih povzroča streptozotocin. Vendar so odmerki, pri katerih nastanejo učinki induciranja tumorjev ali zmanjšanja kancerogenosti drugih snovi, zelo visoki v primerjavi z nizkimi koncentracijami, ki se pojavljajo v kozmetičnih izdelkih. To pomeni, da v KI, ki vsebujejo niacinamid, ne moremo pričakovati ne koristi ne neželenih učinkov, povezanih s kancerogenostjo (40).

Reproduktivna toksičnost

V študijah na brejih miših so tem od 6. do 14. dneva brejosti subkutano aplicirali niacinamid v dimetilsulfoksidu v odmerku 61 mg/kg tm . 18. dan brejosti so miši žrtvovali in ugotovili zmanjšanje amniotske tekočine pri plodu ter zmanjšano maso jeter pri materi, niso pa opazili nobenih pomembnih učinkov na plod miši (40).

Draženje in preobčutljivost

V študijah na prostovoljcih so ugotovili, da formulacije, ki vsebujejo do 20% niacinamida, ne povzročajo draženja kože (40).

V študiji so zajcem intradermalno injicirali nekaj nizkih koncentracij 0.1, 0.25, 1 in 2.5 % niacinamida, raztopljenega v fiziološki raztopini, 0.02, 0.005, 0.1 in 0.5 % natrijevega lavril sulfata in fiziološke raztopine (kontrola). Obseg in naravo reakcij so ocenili 24 in 48 ur po injiciranju pod enotno belo svetlobo. Niacinamid je povzročil rahlo draženje pri treh od sedmih živalih pri koncentraciji 2.5 % po 24 urah. Pri nižjih koncentracijah (1, 0.25 in 0.1 %) ni bilo opaženega draženja. V pogojih te študije je torej 2.5 % niacinamid povzročil rahlo draženje zajčje kože. Stopnja draženja je bila znatno nižja kot pri natrijevem lavril sulfatu.

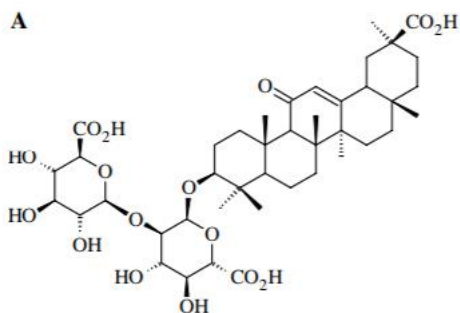
V študiji na morskih prašičkih so intradermalno injicirali niacinamid na štiri različna mesta. Štirinajst dni kasneje so jim na eno mesto intradermalno, na drugo mesto pa topikalno aplicirali niacinamid, po 24 urah so pogledali reakcije. Niso opazili nobenih znakov preobčutljivosti, zato so postopek ponovili. Prav tako nobena od živali ni imela znakov preobčutljivosti (40).

Študije draženja oči so bile izvedene na zajcih, katerim so aplicirali 15 in 25 % vodno raztopino niacinamida. Ugotovili so, da niacinamid ne povzroča draženja oči (40).

Glede na te podatke lahko zaključimo, da je niacinamid varen za uporabo v koncentracijah, ki se uporabljajo v KI.

4.5. Ekstrakt golostebelnega sladkega korena (*Licorice extract*)

Korenina golostebelnega sladkega korena (GSK) vsebuje triterpenoidne saponine, flavonoide, izoflavone in kumarine. Strukturna formula glavne komponente ekstrakta GSK glicirizina je prikazana na sliki 6. GSK in njegovi derivati imajo status GRAS (generally recognized as safe), kar pomeni, da so splošno priznani kot varni za uporabo v prehrani. Ekstrakti GSK kožo posvetlijo tako, da spodbujajo ali zavirajo melanogenezo in tirozinazno aktivnost v koži. Največjo funkcijo pri posvetlitvi kože ima glabridin (8,41).



Slika 6: Glicirizin- strukturna formula (41)

Akutna toksičnost

V študiji akutne toksičnosti ekstrakta GSK so določili LD50 za miši po peroralni aplikaciji > 7.5 g /kg, za podgane pa se vrednosti LD50 gibljejo med 14.2 in 18.0 g/kg (41).

Kratkoročna študija toksičnosti pri ponavljajočih odmerkih

V študiji na podganah so tem peroralno 90 dni aplicirali 0.31, 0.63, 1.25, ali 2.5 g ekstrakta GSK/kg/dan, ki je vseboval 53 % glicirizina. Pri živalih, ki so prejemale 2.5 g/kg/dan, so zaznali zavirano pridobivanje telesne mase. Pri samcih, ki so prejemale najvišja dva odmerka, se je znatno zmanjšalo število rdečih krvnih celic z zmanjšanjem hematokrita. Imeli so tudi zmanjšano število limfocitov pri najvišjem odmerku. Pri samicah so se pri najvišjih odmerkih znižali skupni proteini in albumin, medtem ko se je pri samcih zvišal le ta. Serumski holesterol se je zmanjšal pri najvišjem odmerku pri obeh spolih (41).

Genotoksičnost

Večina študij genotoksičnosti poroča o odsotnosti genotoksičnih učinkov ekstrakta GSK in glicirizinatnih spojin. Samo v eni študiji je bil prisoten genotoksični odziv. Ekstrakt GSK je bil mutagen na *S. typhimurium* TA100 v vseh testiranih koncentracijah, ni pa bil mutagen sevu TA98, vendar pa ta odziv ni bil jasno odvisen od koncentracije (42).

Reproduktivna in razvojna toksičnost

Toksičnost vodnega ekstrakta GSK so vrednotili na podganah. Ekstrakt GSK (500, 1000 in 2000 mg/kg) so raztopili v vodi ga peroralno aplicirali samcem podgan 9 tednov pred parjenjem in vse do dneva parjenja. Peroralno so ga aplicirali tudi samicam podgan od 2 tedna pred parjenjem do 19 dneva brejosti. Po 20 dnevu brejosti so naredili carski rez in ocenili abnormalnosti pri fetusu in materi. Opazili niso nobenih abnormalnosti, ugotovili so,

da dolgotrajna izpostavljenost brejih samic ekstraktu GSK ne povzroča razvojne toksičnosti (43).

Draženje kože

Znan je en primer alergijskega dermatitisa zaradi uporabe kreme za posvetlitev kože, ki je vsebovala ekstrakt GSK. Pozitivna reakcija je bila ugotovljena pri testu z obliži.

V pregledih literature, v zvezi z ekstraktom GSK, niso odkrili nobenih prijavljenih primerov kontaktnega dermatitisa (44).

Študije na ljudeh

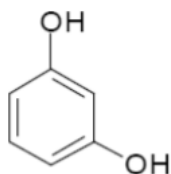
V medicinski literaturi lahko najdemo veliko kliničnih poročil o primerih učinkov GSK. Ta vključujejo z GSK povzročeno hipertenzijo, hipokalemijo, zmanjšano koncentracijo renina in aldosterona v plazmi, miopatije, edem in/ali mišično šibkost. Večina bolnikov si opomore po odvzemu vira GSK, vendar so v nekaterih ekstremnih primerih poročali tudi o smrti (42).

Dovoljena uporaba

Ekstrakt golostebelnega sladkega korena so odobrili FDA, Svet Evrope in Strokovni odbor za aditive in živila (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA). Prav tako je na seznamu živil GRAS (42).

4.6. Resorcinol

Resorcinol je 1,3-dihidroksibenzen, strukturna formula je prikazana na sliki 7. Trenutno je reguliran s kozmetično uredbo (ES) št. 1223/2009, prilogo III - Seznam snovi, ki jih kozmetični izdelki ne smejo vsebovati, razen ob upoštevanju določenih omejitev in pogojev. Resorcinol in derivati zavirajo aktivnost tirozinaze in s tirozinazo povezanih proteinov TRP-1 (12,45).



Slika 7: Resorcinol – strukturna formula (45)

Akutna toksičnost

Študijo so izvedli na 4 samicah podgan, prejele so enkratni peroralni odmerek 200 mg/kg tm. Predhodno so na podganah testirali odmerke 200, 500 in 2000 mg/kg tm, da so določili pravi odmerek za študijo akutne toksičnosti. Ugotovili so, da pri odmerkih 500 in 2000 mg/kg tm nastopi do smrt v 15 oziroma 20 minutah po aplikaciji. Zato so za pravi odmerek za izvedbo študije izbrali odmerek 200 mg/kg tm. 14 dni po aplikaciji enkratnega odmerka (200 mg/kg tm) so dnevno spremljali klinične znake in umrljivost ter obolevnost podgan. Dve uri po aplikaciji so opazili piloerekcijo in dispnejo. V prvem dnevu po aplikaciji so opazili hipoaktivnost, tresenje in dispnejo pri vseh živalih, drugi dan se je stanje normaliziralo. Niso opazili nobenih nepravilnosti in telesna masa se ni povečala. Zaključili so, da je maksimalni letalni odmerek 200 mg/kg tm (45).

Študija pri ponavljajočih odmerkih

V 17-dnevni peroralni študiji na podganah in miših (5 živali vsakega spola) so te prejemale resorcinol v hrano 5 dni na teden. Odmerki za podgane so bili 0, 27.5, 55, 110, 225 in 450 mg/kg tm/dan, odmerki za miši pa so bili 0, 37.5, 55, 150, 300 in 600 mg/kg tm/dan. Živali so bile dnevno pregledane na znake toksičnosti, tehtali so jih pred študijo in tedensko med študijo, kontrolirali so tudi maso posameznih organov. V študiji so preživele vse podgane, opazili niso nobenih razlik v njihovi telesni masi. Klinični znaki toksičnosti so se pri podganah pojavili v eni uri in pol po administraciji in so trajali 1 do 2 uri. Pri samcih podgan, ki so prejemale odmerek 225 in 450 mg/kg tm/dan, so opazili nenormalno hitro dihanje in hiperrazburljivost. Pri samicah se je hiperrazburljivost pojavila pri odmerku 55 mg/kg tm/dan in višjih, nenormalno hitro dihanje pa se je pojavilo pri odmerkih 110 in 450 mg/kg tm/dan. Absolutna in relativna masa timusa so se statistično zmanjšale pri samicah, ki so prejemale višje odmerke. Opazili niso nobenih drugih sprememb, ki bi jih lahko pripisali resorcinolu. Vse samice miši in štirje samci, ki so prejemale odmerek 600 mg/kg/tm, in en samec, ki je prejemal odmerek 300 mg/kg/tm, so poginili zaradi izpostavljenosti resorcinolu. Telesna masa preživelih miši je bila primerljiva s telesno maso na začetku študije. Pri samcih, ki so prejemale odmerke 150, 300 in 600 mg/kg tm/dan, in samicah, ki so prejemale odmerke 300 in 600 mg/kg/tm dan, so klinične ugotovitve pokazale izrazito izgubo moči in tresavico. Klinični znaki so se tako pri podganah kot pri miših pojavili v uri in pol in so trajali 1 do 2 uri pri preživelih živalih. Pri vseh živalih niso opazili spremembe v masi organov, prav tako niso opazili nobenih drugih sprememb, ki bi jih lahko pripisali

resorcinolu.

Na podlagi kliničnih znakov je odbor Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) sklenil, da je NOAEL pri podganah znašal 27.5 mg/resorcinola/kg tm/dan, NOAEL pri miših pa je znašal 75 mg/kg tm/dan (46).

Genotoksičnost in mutagenost

V *in vitro* študiji na bakteriji *Salmonella typhimurium* v odsotnosti in prisotnosti metabolne aktivnosti so preiskovali, ali resorcinol povzroča mutacije. Uporabili so naslednje koncentracije resorcinola: 1.6, 8, 40, 200, 1000 in 5000 µg/ploščo. Resorcinol pri pogojih, uporabljenih v študiji, ni povzročil genskih mutacij na bakterijah *Salmonella typhimurium* (45).

V študiji genske mutacije so opravili tudi *in vitro* na liniji mišjih limfomov L5178Y v prisotnosti in odsotnosti metabolne aktivnosti. Ugotovili so, da je resorcinol v pogojih študije genotoksičen (mutagen in/ali klastogen) v odsotnosti metabolne aktivnosti. Klastogenost resorcinola v odsotnosti metabolne aktivnosti so odkrili v *in vitro* mikronukleusnem testu (45).

Eritrocitni mikronukleusni test na sesalcih so izvedli na podganah. Odmerek resorcinola je bil od 100 do 750 mg/kg tm, dodali so ga v hrano podgan. Maksimalni toleriran odmerek je bil 500 mg/kg tm. Ugotovili so, da resorcinol ni povzročil klastogene aktivnosti v testiranih pogojih (45).

V študiji *in vitro* testa genske mutacije (test mišjega limfoma) so resorcinol ocenili v dveh neodvisnih eksperimentih, pri čemer so uporabili dvojne kulture. V obeh eksperimentih so bile uporabljene koncentracije do 1101 µg/mL, kar ustreza 10 mM (največji priporočeni koncentraciji). Pri pogojih študije resorcinol ni induciral genskih sprememb v testu mišjega limfoma v prisotnosti ali odsotnosti metabolne aktivnosti (46).

Kancerogenost

Izvedli so dvoletno študijo kancerogenosti na miših in podganah, ki so resorcinol prejemale v pitno vodo. Skupine miši (obeh spolov) in samcev podgan so prejemale odmerke 112 ali 225 mg/kg tm, 5 dni na teden 104 tedne. Sprva so tudi samice podgane prejemale enake odmerke, vendar je do 22. tedna poginilo 16 podgan, zato so študijo na samicah podgan začeli znova z drugimi odmerki. Odmerki, ki so jih uporabili pri samicah podgan, so bili 50, 100 in 150 mg/kg tm. Po 15 mesecih študije so opravili vmesne ocene na 10 živalih iz vsake

skupine. Pri vmesni oceni niso opazili nobenih sprememb parametrov klinične patologije, incidence novotvorb in /ali ne-neoplastičnih lezij. Telesna masa samcev podgan, ki so prejeli najvišji odmerek, je bila od 87. tedna in do konca študije za 10 do 15 % nižja od tm podgan v kontrolni skupini. Telesna masa samic podgan, ki so prejemale najvišji odmerek, je bila od 95. tedna do konca študije za 11 do 14 % nižja od kontrolne skupine. Preživetje podgan obeh spolov, ki so prejemale najvišji odmerek, je bilo nižje od preživetja kontrolne skupine. Tudi pri samicah miši so opazili zmanjšanje tm od 85. tedna in do konca študije. Preživetje miši testne skupine je bilo podobno preživetju miši iz kontrolne skupine. Pri podganah in miših so opazili klinične znake, povzročene s kemičnim učinkom, ki vplivajo na centralni živčni sistem. Pri samicah podgan se je pri vseh testnih skupinah zmanjšala incidenca pojava fibroadenoma mlečnih žlez. Pri samcih miši, ki so prejeli najvišji odmerek, se je zmanjšala incidenca pojava subkutanega fibroma ali sarkoma v primerjavi s kontrolno skupino. V pogojih študije ni bilo pojava kancerogenosti pri samcih podgan, ki so prejeli odmerke 112 ali 225 mg/kg tm. Prav tako ni bilo znakov kancerogenosti pri samicah podgan, ki so prejemale odmerke 50, 100 ali 150 mg/kg tm. Znakov kancerogenosti ni bilo pri miših obeh spolov pri odmerkih 112 ali 225 mg/kg tm. Na podlagi akutnih kliničnih znakov toksičnosti, povezanih z resorcinolom, je odbor EFSA zaključil, da je NOAEL 50 mg resorcinola/kg tm/dan. Ta NOAEL ustreza dnevni odmerku 36 mg/kg tm/dan, prilagojen s 5-dnevnega odmerjanja na 7-dnevno odmerjanje na teden. Ker so izpostavljali živali spojini s hrano in so klinični znaki trajali 30 do 60 minut po odmerjanju, so ti lahko posledica visokega lokalnega odmerka. V primeru dermalne aplikacije ti učinki niso pomembni, zato se ta NOAEL 50 mg/kg tm/dan ne uporablja pri izračunu MOS (45,46).

Reproduktivna toksičnost

Izvedli so dvo-generacijsko študijo reproduktivne toksičnosti na podganah. 70 dni pred parjenjem so podgane v pitno vodo dobivale odmerek resorcinola. Odmerki so bili 0, 120, 260, 1000 in 3000 mg/L za generaciji 0 in 1. Podgane so bile dnevno kontrolirane (telesna masa, obnašanje, videz ipd.). V študiji ni bilo kliničnih ugotovitev, povezanih z reproduktivno toksičnostjo. Tm se je povečala v skupini, ki je prejela odmerek 3000 mg/L. Zmanjšanje vnosa vode pri podganah je nastalo v skupinah, ki sta prejeli odmerke 1000 in 3000 mg/L resorcinola, to pripisujejo dejstvu, da je voda, ki vsebuje več resorcinola, manj okusna. Aplikacija resorcinola ni vplivala na reproduktivno učinkovitost in pogostost

reprodukcije podgan. V študiji ni bilo opaženih nobenih učinkov na preživetje mladičev, njihovo fizično kondicijo in na organe. Prav tako ni bilo opaženih nobenih učinkov na organe odraslih podgan (staršev). Na podlagi rezultatov te študije so določili NOAEL 3000 mg resorcinola/L, kar ustreza ~233 mg/kg tm/dan samcev podgan celotno generacijo in 304 mg/kg tm za samice pred parjenjem in med brejostjo ter 660 mg/kg tm za samice med dojenjem (45).

Teratogenost

Študijo teratogenosti so izvedli na samicah podgan, te so v hrano so enkrat na dan prejele odmerek resorcinola od 6. do 19. dneva brejosti. Odmerki so bili 0, 40, 80 ali 250 mg/kg tm/dan. Samice so 20. dan brejosti žrtvovali in makroskopsko pregledali. Pregledali so števila rumenih telesc (rumenkasta žleza v jajčniku se razvije iz ostankov terciarnega folikla po ovulaciji, če ni nosečnosti, usahne kot ciklično rumeno telesce v dveh tednih, v primeru nosečnosti pa se razvija naprej in se ohrani kot nosečnostno rumeno telesce (*corpus luteum*)) in število živih fetusov. Fetuse so odstranili iz maternice, pregledali, stehali, določili so jim spol. Pri polovici fetusov so opravili pregled mehkega tkiva, pri drugi polovici pa pregled skeleta. Ugotovili so, da je bila pri odmerku 250 mg/kg tm/dan neto telesna masa znatno zmanjšana, pri materah ni bilo opaženih nobenih drugih učinkov. Odmerki niso vplivali na telesno maso fetusov, v leglih niso opazili nobenih malformacij zunanjih, skeletnih ali mehkih tkiv. V študiji so določili NOAEL za breje podgane 80 mg/kg tm/dan in razvojni NOAEL 250 mg/kg tm/dan.

Peroralna izpostavljenost podgan 5 mg/kg tm/dan 12 tednov je privedla do zgodnje stopnje golšavosti. V drugi študiji je izpostavljenost 5 mg/kg tm/dan za 30 dni privedla do znatnega povečanja ščitnice in zmanjšanja ravni serumov T3 in T4 pri podganah. V nasprotju s tem večkratni (2x dnevno) subkutani dnevni odmerki 10 mg/kg tm za 14 ali 30 dni aplicirani podganam moškega spola niso povzročili neželenih sprememb ščitničnih funkcij, ki jih kaže seruma T3 in T4. Tudi pri subakutni, subkronični in kronični peroralni študiji na podganah niso zaznali negativnih učinkov na delovanje ščitnice (NOAEL 27.5, 32 in 50 mg/kg tm/dan).

Proti-ščitnična aktivnost resorcinola pri živalih se kaže samo pri kontinuirani uporabi (prehrana, injiciranje) in pri subkutani aplikaciji večjih odmerkov (154 mg/kg/tm). Zaradi medvrstnih razlik pri nastajanju golše je bilo navedeno, da naj se učinke resorcinola na

ščitnico razlaga previdno in da visoki odmerki snovi, ki povzročajo hormonsko povzročene spremembe ščitnice pri podganah, niso relevantne oziroma imajo majhen pomen za ljudi (45,46).

Preobčutljivost kože

Študijo preobčutljivosti so izvajali v dveh neodvisni eksperimentih na 7 skupinah podgan (v vsaki skupini so bile 4 podgane). Za ušesa podgan so 1x dnevno nanесли volumen 25 μ L. Testirali so preobčutljivostni potencial resorcinola v dimetilformamidu (DMF). V predhodnem testu so določili, da 50 % koncentracija ni bila dražilna. Koncentracije resorcinola v prvem eksperimentu so bile 2.5, 5, 10, 25 in 50 %. V drugem eksperimentu pa so bile koncentracije resorcinola 0.1, 0.5, 1, 5 in 25 %. 1., 2., 3. in 6. dan so pri obeh eksperimentih izmerili debelino uhlja in zabeležene so bile reakcije draženja. 6. dan eksperimenta so vse živali dobile 250 μ L 0.9 % NaCl z 20 μ Ci triciiranega timidina. Približno 5 ur po tem so bile podgane žrtvovane, odvzete so jim bile bezgavke. V prvem eksperimentu niso opazili nobene smrtnosti in nobenih kliničnih znakov. V drugem eksperimentu so 3. dan pri koncentracijah 1 in 5 % opazili hipoaktivnost, piloerekcijo in dispnejo. Pri nobenih od preizkusnih živali niso opazili draženja kože in povečanja debeline uhlja. Koncentracija, ki je bila potrebna za pozitiven odziv, je bila 1.4 %. Resorcinol je v študiji povzročil kontaktno preobčutljivost, na podlagi rezultatov so predlagali, da bi moral biti obravnavan kot močen senzitivator (45).

Draženje kože

Testirali so potencial draženja kože 2.5 % vodne raztopine resorcinola. 0.5 mL testne spojine so aplicirali zajcem pod pol-okluzivnimi obliži na sprednji del telesa za 4 ure, levi bok za 1 uro in desni bok 3 minute. Kožo so pregledali 1, 24, 48 in 72 ur po odstranitvi obližev ter nato dnevno, dokler ni bilo 4 zaporednih dni brez draženja kože. Pri testiranih živalih niso opazili reakcij draženja na koži. Ugotovili so, da 2.5 % raztopina resorcinola ni dražilna za kožo zajcev (45).

Draženje oči

Testirali so dražilni potencial 2.5 % raztopine resorcinola na očeh zajcev. Odmerek 0,1 mL so aplicirali v konjunktivno vrečico leve oči, desno oko je služilo za kontrolo. Po aplikaciji odmerka so 1 sekundo oči zajca držali zaprte, da se testna substanca ne bi izgubila. Očes po aplikaciji testne substance niso sprali. Ocene konjuntive, roženice in irisa so opravili 1 uro

po aplikaciji in nato še po 24, 48 in 72 urah po prvem pregledu. Na 2/3 živali so prvi ali drugi dan opazili pordelost konjunktive 1. razreda, drugih okularnih lezij med študijo niso opazili. Ugotovili so, da 2.5 % raztopina resorcinola povzroči blago draženje konjunktive očesa kuncev (45).

Dermalna/perkutana absorpcija

Študija so izvedli na vzorcih človeške kože (iz dojk in trebuha), ki so bili pridobljeni od 8 darovalk, ki so bile na plastični operaciji. Do uporabe so bili zmrznjeni pri približno - 20 °C. Vzorci kože so bili debeline 350-400 µm in vgrajeni v pretočno difuzijsko celico s fosfatno puferno soljo (PBS pufrom) brez magnezija in kalcija. Celovitost kože so preverili z merjenjem koeficienta prepustnosti tritirane vode ($< 2.5 \cdot 10^{-3}$ cm/h za izbrane membrane). Kožo so vzdrževali pri približno 32°C. Resorcinol so testirali tako v oksidativnih kot v ne-oksidativnih pogojih. V oksidativnih pogojih so resorcinol vključili v tipično formulacijo barve za lase, končna koncentracija je bila 1.25% (m/m). Tudi v ne oksidativnih pogojih je bila koncentracija 1.25 % (m/m). Na kožo so za 30 minut nanесли 20 mg/cm² oksidativnih in ne oksidativnih pripravkov za testiranje. Po 30 minutah so preostalo formulacijo, ki je ostala na koži, odstranili s standardiziranim postopkom pranja. 24 ur po aplikaciji so ocenili perkutano absorpcijo resorcinola z merjenjem njegove koncentracije v posodi, *stratum corneumu* (izoliranem s trakovi), koži (živemu *dermisu* in *epidermisu*) in receptorski tekočini. Kot dermalno absorpcijo (vsota količin, izmerjena v živem *epidermisu*, *dermisu* in receptorski tekočini) so določili 1.04 ± 0.51 µg/cm² uporabljenega odmerka, z maksimalno absorpcijo (A max) 2.0 µg/cm² (45).

Študija nacionalnega toksikološkega programa (NTP)

V 13-tedenski peroralni študiji toksičnosti na podganah in miših so resorcinol administrirali 5 dni v tednu v prehrano živali. Odmerki so bili 0, 32, 65, 130, 260 in 520 mg/kg tm/dan za podgane (10 živali na odmerek), za miši (10 živali na odmerek) so bili odmerki 0, 28, 56, 112, 225 in 420 mg/kg tm/dan. Živali so dvakrat dnevno pregledali za smrtnost in tedensko za znake toksičnosti. V študiji so podgane, ki so prejemale najvišji odmerek, zaradi toksičnosti, povezane z resorcinolom, poginile v prvih štirih tednih študije. Tresavico so opazili pri visokih odmerkih pri obeh spolih podgan. Spremembe v masi organov so opazili pri jetrih pri obeh spolih in pri nadledvični žlezi pri samcih. Odbor EFSA je opazil, da so bila povečanja v masi jeter rahla, brez očitnih razmerji med odmerkom in učinkom, opazili

niso poslabšanega delovanja jeter in histopatoloških sprememb. Zato odbor EFSA meni, da učinek na maso jeter ni biološko pomemben. Povečana je bila tudi masa nadledvične žleze pri samcih, pri vseh odmerkih. Odbor EFSA je ugotovil, da so bile razlike v masi majhne, da razmerje med odmerkom in učinkom ni bilo očitno in da sprememb niso spremljale histopatološke ugotovitve. V študiji na miših je v skupini z najvišji odmerkom v prvem tednu umrlo 7 miši vsakega spola, v 4. tednu je sledila smrt enega samca in v 12. tednu še smrt ene samice. Avtorji študije so te smrti povezali s toksičnostjo resorcinola. Končni telesni masi dveh preživelih samcev iz skupine, ki je prejela najvišji odmerek, sta bili značilno manjši od kontrol. Ostale končne telesne mase so bile primerljive kontrolam. Klinični znaki toksičnosti, ki so se pojavili pri najvišjih odmerkih, so bili tresavica, težko dihanje in izčrpanost. Ti znaki so se pojavili v 30 minutah po odmerjanju. Opazili so signifikantno zmanjšanje mase nadledvične žleze pri samcih pri vseh odmerkih, vendar ni bilo opaženega razmerja med odmerkom in učinkom. Opazili so še nekaj razlik v masi organov, vendar nobena ni bila obravnavana kot biološko pomembna. Na podlagi poročanih kliničnih učinkov je EFSA določil NOAEL za podgane 130 mg resorcinola/kg tm/dan. NOAEL za miši pa je 225 mg/kg tm/dan. Odbor je opazil, da je bil odmerek, ki povzroča smrtnost, manj kot dvakrat večji od NOAEL-a (46).

Podatki iz študij na ljudeh

Opisani so primeri ščitnične disfunkcije po izpostavitvi resorcinolu. Ponavljajoča izpostavljenost višjim odmerkom (več kot 30 mg/kg tm/dan) v daljšem časovnem obdobju lahko povzroči reverzibilen hipotiroidizem (po prekinitvi izpostavljenosti resorcinolu simptomi hipotiroidizma hitro izginejo). V drugi študiji so bili opisani primeri reverzibilnega hipotiroidizma pri bolnikih s trajnimi razjedami kože. Ti bolniki so bili zdravljeni z mazili, ki vsebujejo resorcinol v visokih koncentracijah (14.5–40 %) za nekaj tednov do mesecev. Epidemiološke študije kažejo, da izpostavljenost resorcinolu z vdihavanjem in dermalnim stikom v koncentracijah, prisotnih v poklicnih okoljih, ne zadošča za nastanek nepravilnosti v delovanju ščitnice. Spremembe v delovanju ščitnice se lahko pojavijo pri dermalni izpostavljenosti kože z razjedami in odmerkom resorcinola, večjim od 30 mg/kg tm/dan. Iz teh podatkov so določili mejno vrednost učinka delovanja na ščitnico 10 mg/kg tm/dan za dermalno izpostavljenost. Vendar pa je izpostavljenost visokim odmerkom redka in se v glavnem pojavlja pri bolnikih, ki se zdravijo zaradi razjed z velikimi odmerki resorcinola v daljšem časovnem obdobju. Ni pa nobenih dokazov, da izpostavljenost s prekinitvami ali

izpostavljenost nizkim odmerkom resorcinola povzroča hipotiroidizem ali druge škodljive učinke na zdravje (45).

Mnenje SCCS

Resorcinol je močan senzibilizator. V koncentracijah do 1.25% v barvah za lase ne povzroča nevarnosti za zdravje potrošnikov, razen možnosti senzibilizacije. Treba bo še izvesti študije genotoksičnosti in mutagenosti v končnih pripravkih za lase v skladu z navodili. Resorcinol se uporablja tudi kot aditiv v živilih, zato so ga ocenili tudi pri Evropski agenciji za varnost hrane (EFSA) (46).

4.7. Ocena varnosti pregledanih KAS za posvetlitev kože

Sestavine, ki so se v pregledanih KI pojavile najpogosteje, smo ovrednotili glede varnosti njihove uporabe. LD50 vrednosti šestih najpogosteje pojavljenih KAS so predstavljene v preglednici II. LD50 je srednji smrtni odmerek, ki pri polovici poskusnih živali povzroči smrt. Visoka vrednost LD50 pomeni nizko toksičnost. V preglednici II je tudi ocena nevarnosti za zdravje. Te ocene smo dobili pri www.sciencelab.com in pri www.ewg.org. Ocene nevarnosti za zdravje, pridobljene s spletne strani www.sciencelab.com, so od 0 do 5.

0 – snovi, ki pri izpostavljenosti požaru ne bi povzročile večje nevarnosti kot običajen vnetljiv material.

1 – snovi, ki bi ob izpostavljenosti lahko povzročile onesposobitev ali morebitno trajno poškodbo, tudi ob prisotnosti zdravljenja.

2 – snovi, ki bi ob intenzivni ali neprekinjeni izpostavitvi lahko povzročile resno začasno onesposobitev ali morebitno trajno poškodbo, razen v primeru hitre zdravniške oskrbe.

3 – snovi, ki ob kratkotrajni izpostavitvi lahko povzročijo resno začasno ali trajno poškodbo kljub hitremu zdravljenju.

4 – snovi, ki pri zelo kratki izpostavljenosti lahko povzročijo smrt ali večjo trajno poškodbo kljub hitri zdravniški oskrbi (49).

Ocene nevarnosti za zdravje, pridobljene s spletne strani www.ewg.org, pa so od 1 do 10, pri čemer 1-2 pomeni nizko nevarnosti, 3-6 zmerno nevarnosti in 7-10 veliko nevarnost (19).

Preglednica II: Šest najpogostejših KAS za posvetlitev kože, prisotnih v pregledanih KI, njihove LD50 vrednosti, ocene nevarnosti za zdravje, status GRAS in vrednosti NOAEL.

KAS	LD50-peroralna aplikacija na podganah	LD50-peroralna aplikacija na miših	Ocena nevarnosti za zdravje www.sciencelab.com	Ocena nevarnosti za zdravje www.ewg.com	GRAS	NOAEL
Tokoferol	4000 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	4000 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	2 ⁽⁴⁸⁾	1 ⁽¹⁹⁾	+ ⁽⁴⁹⁾	125 mg/kg tm/dan ⁽⁴⁹⁾
Askorbinska kislina	11900 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	3367 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	1 ⁽⁴⁸⁾	1 ⁽¹⁹⁾	+ ⁽⁴⁹⁾	2000 mg/kg/dan ⁽⁵²⁾
Mlečna kislina	3543 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	4875 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	3 ⁽⁴⁸⁾	4 ⁽¹⁹⁾	+ ⁽⁴⁹⁾	500 mg/kg tm/dan ⁽⁵³⁾
Niacinamid	3500 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	2500 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	2 ⁽⁴⁸⁾	1 ⁽¹⁹⁾	+ ⁽⁴⁹⁾	215 mg/kg tm/dan ⁽⁵⁴⁾
Ekstrakt golostebelne ga sladkega korena	med 14.2 in 18.0 g/kg ⁽⁴¹⁾	>7500 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	1 ⁽⁴⁸⁾	1 ⁽¹⁹⁾	+ ⁽⁵⁰⁾	/ (ni podatkov)
Resorcinol	301 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	200 mg/kg ⁽⁴⁸⁾	2 ⁽⁴⁸⁾	8 ⁽¹⁹⁾	+ ⁽⁵¹⁾	27.5 mg/kg tm/dan ⁽⁴⁶⁾

+ = spojina je GRAS

V preglednici II lahko vidimo, da ima najvišje vrednosti LD50 ekstrakt golostebelnega sladkega korena, kar pomeni, da ima izmed pregledanih 6 KAS najnižjo toksičnost. Najvišjo toksičnost ima resorcinol. Ocena nevarnosti za zdravje je po podatkih, pridobljenih iz www.sciencelab.com, najvišja pri mlečni kislini, vendar je nevarnost mlečne kisline odvisna od njene koncentracije, ocena nevarnosti je podana za 85 % mlečno kislino, takšne koncentracije pa v KI niso dovoljene. Po podatkih, pridobljenih s strani www.ewg.org, pa ima najvišjo oceno nevarnosti resorcinol, sledi mu mlečna kislina. Vidimo lahko, da ima vseh šest KAS status GRAS. Po vrednostih NOAEL določenih na ponavljajočih študijah toksičnosti na živalih lahko rečemo, da je AA najmanj toksična, saj ima najvišji NOAEL. Najnižji NOAEL in s tem najvišjo toksičnost pa ima resorcinol.

V preglednici III imamo prikazane podatke dražilnosti, preobčutljivosti, genotoksičnosti in reproduktivne toksičnosti za 6 najpogosteje prisotnih KAS v pregledanih KI. Iz preglednice lahko razberemo, da kožo dražijo AHA (mlečna kislina), blago draženje kože je možno tudi pri ekstraktu GSK. Izmed vseh KAS preobčutljivost povzroča resorcinol in njegovi derivati, resorcinol spada celo med močne senzitivatorje. Možnost preobčutljivostnih reakcij je tudi

pri ATIP. Nobena od šestih KAS ni reproduktivno toksična. Prav tako nobena ne izkazuje genotoksičnosti, razen za AP so v *in vivo* testih in z uporabo *in silico* metode napovedali genotoksičnost.

Iz teh podatkov lahko sklepamo, da so izmed teh šestih KAS najbolj varni tokoferol in derivati ter niacinamid.

Preglednica III: Šest najpogostejših KAS za posvetlitev kože prisotnih v pregledanih KI, ocena njihove dražilnosti, preobčutljivosti, genotoksičnosti in reproduktivne toksičnosti. (ATIP – askorbiltetraizopalmitat, AS – askorbilstearat, AP – askorbilpalmitat)

KAS za posvetlitev kože	dražilnost kože	preobčutljivost	genotoksičnost	reproduktivna toksičnost
Tokoferol in derivati	-	-	-	-
Askorbinska kislina in derivati	-	- (možnost preobčutljivostnih reakcij pri ATIP)	- (AS, ATIP) + (AP)	- (AP, AS)
AHA - mlečna in citronska kislina	+ (plato draženja dosežen pri 10%)	-	-	-
Niacinamid	-	-	-	-
Ekstrakt golostebelnega sladka korena	blaga ⁽⁵⁵⁾ znan primer alergijskega dermatitisa	(ni podatkov)	-	-
Resorcinol in derivati	-	+ (močan senzitizer)	-	-

-: ne povzroča;

+: povzroča

Povzetki ocen za posamezno KAS

- Tokoferol se bolj absorbira v kožo kot njegovi derivati. Tako tokoferol kot njegovi derivati ne povzročajo draženja kože in oči. Tokoferol je redek kontaktni alergen, kontaktni dermatitis se lahko pojavi pri KI, ki vsebujejo tokoferol linoleat. Tokoferol ni genotoksičen, mutagen, teratogen, njegova akutna peroralna toksičnost je zelo nizka. Izkazuje tudi fotozaščitne lastnosti. SCCNFP meni, da alfa-tokoferolacetat ne predstavlja nevarnosti za zdravje potrošnikov in zato ne predlaga nobenih omejitev ali pogojev za uporabo alfa-tokoferolacetata v kozmetičnih izdelkih.
- Askorbinska kislina je minimalno toksična, ni dražilna in ne povzroča senzibilizacij, koža in mukozne membrane jo dobro prenašajo. Hitro se metabolizira in izloča. Dokazali so tako mutageno kot antimutageno delovanje, ki pa je odvisno od testnega sistema in odmerka. Ni kancerogena za živali, lahko inhibira ali spodbuja eksperimentalno kancerogenezo. Nima učinkov na reprodukcijo, ni teratogena, ne toksična za fetus. Dnevni odmerek za ljudi, ki ga priporoča FDA, je 45 mg/dan za odrasle.
AP dobro penetrira v kožo. Pri kronični peroralni uporabi AP pri podganah se lahko tvorijo oksalatni kamni, kamni mehurja, nastanejo lahko hiperplazije epitelijskega mehurja in nefritisa.
ATIP je bil v dveh primerih poročil o uporabi KI pozitiven v testu preobčutljivosti.
- Niacinamid ne povzroča draženja kože in oči, preobčutljivosti, sam po sebi ni kancerogen. V kombinaciji z vnosom visoke vsebnosti maščob pri peroralni aplikaciji niacinamid povzroča zamaščenost jeter. Niacinamid je varen za uporabo v koncentracijah, ki se uporabljajo v KI.
- Ekstrakt GSK ima nizko akutno toksičnost, ni genotoksičen, ne povzroča reproduktivne toksičnosti. Znan primer pojava alergijskega kontaktnega dermatitisa ob uporabi kreme z ekstraktom GSK. Ekstrakt golostebelnega sladkega korena so odobrili FDA, Svet Evrope in Strokovni odbor za aditive in živila.
- Mlečna kislina ima plato draženja kože dosežen pri koncentraciji 10 % in se pri 20 % le še minimalno poveča. Izrazito zmanjšanje draženja se pojavi ob naraščanju pH vrednosti od 3 do 7. Podatki kažejo, da je pH najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na draženje izdelkov z AHA, je bolj pomemben kot koncentracija AHA. V Nemčiji so na podlagi podatkov priporočili, da se mlečna kislina uporablja v izdelkih do

koncentracije 2.5 % in $\text{pH} \geq 5.33$. Priporočljivo je, da so na izdelkih, ki vsebujejo AHA, opozorila: izogibanje stika z očmi, izogibanje/zaščita pred UV-sevanjem med uporabo teh izdelkov.

- Resorcinol ni dražilni, je pa močan senzitizer. Opisanih je več primerov ščitnične disfunkcije po izpostavitvi resorcinolu. Ponavljajoča izpostavljenost višjim odmerkom povzroča reverzibilen hipotiroidizem. Določili so mejno vrednost ščitničnega učinka 10 mg/kg tm/dan za dermalno izpostavljenost, ki temelji na uporabi trojnega varnostnega faktorja. Ni pa nobenih dokazov, da izpostavljenost s prekinitvami ali izpostavljenost nizkim odmerkom resorcinola povzroča hipotiroidizem ali druge škodljive učinke na zdravje.
- Skoraj vse hipoteze, ki smo jih preverjali v magistrski nalogi, lahko potrdimo. Vsi pregledani KI imajo na ovojniini navedene sestavine, ki jih vsebujejo. Vse vsebovane KAS za posvetlitev, prisotne v KI, so dovoljene. Kot smo pričakovali, smo KAS za posvetlitev kože našli tudi v kremah proti staranju kože (17.7 %) in v sončnih kremah (23.5 %). Ovržemo lahko le hipotezo glede rastlinskih ekstraktov, saj je med pregledanimi KAS za posvetlitev kože le 35.3 % rastlinskih ekstraktov.
- Glede na pregledane KAS menimo, da med bolj varne KAS za posvetlitev kože spadata ekstrakt GSK, saj ima najvišje vrednosti LD50 in s tem najnižjo toksičnost, in AA, ki ima izmed pregledanih KAS najvišjo vrednost NOAEL in s tem najnižjo toksičnost.
- Glede na pregledane KAS in KI za posvetlitev kože menimo, da med najbolj varne KI spadajo tisti, ki vsebujejo ekstrakt GSK (7.6 %) ter AA in njene derivate (12.9 %).

5. Sklep

V magistrski nalogi smo pregledali 51 KI, ki so vsebovali 51 različnih KAS za posvetlitev kože. Pregledali smo 6 najpogostejših KAS za posvetlitev kože, ki so bili v preiskovanih KI, in ugotovili naslednje:

- Najpogosteje uporabljeni KAS za posvetlitev kože sta tokoferol in derivati (18.7 %) ter askorbinska kislina in derivati (16.4 %). Sledijo jima AHA (8.8 %), niacinamid (8.2 %), ekstrakt golostebelnega sladkega korena in derivati (7.6 %) ter derivati resorcinola (5.3 %).
- Povprečno je v pregledanih KI 3.3 KAS za posvetlitev kože. V 31.4 % so v KI 4 ali več KAS za posvetlitev kože.
- KAS za posvetlitev kože smo našli tudi v KI, ki so namenjeni zaščiti pred soncem in v izdelkih proti staranju kože.
- 18 KAS v izdelkih je bilo rastlinskih ekstraktov, kar predstavlja 35.3 %.
- Antioksidativne lastnosti ima 44 KAS, kar je 86.3 % pregledanih KAS za posvetlitev kože.
- Od podrobneje pregledanih KAS draženje kože povzroča mlečna kislina (AHA), draženje doseže plato pri koncentraciji 10%. Nanj vplivata koncentracija mlečne kisline in pH-vrednost. SCCNFP priporoča uporabo mlečne kisline v koncentraciji do 2.5 % in pH-vrednosti ≥ 5 . Blago draženje lahko pričakujemo tudi pri ekstraktu GSK.
- Znan je primer alergijskega kontaktnega dermatitisa ob uporabi kreme za posvetlitev kože, ki je vsebovala ekstrakt GSK.
- Preobčutljivostne reakcije lahko pričakujemo pri 2 KAS, in sicer je resorcinol močan senzibilizator, možnost preobčutljivostnih reakcij pa je tudi pri ATIP.
- Genotoksičnost so napovedali le pri AP.
- Nobena od 6 najpogosteje uporabljenih KAS ni reproduktivno toksična.
- Najvišjo LD50 in s tem najnižjo toksičnost ima ekstrakt GSK. Najnižji LD50 in s tem najvišjo toksičnost izmed 6 KAS ima resorcinol.
- Najvišji NOAEL izmed 6 KAS in s tem najnižjo toksičnost ima AA.
- Najnižji LD50 in NOAEL in s tem najvišjo toksičnost izmed 6 KAS ima resorcinol.

- Vseh 6 podrobneje obravnavanih KAS za posvetlitev kože ima status GRAS.
- Ugotovili smo, da za topikalno uporabo, KI ki smo jih obravnavali, največjo skrb lahko povzročata resorcinol in AHA.

Zaključimo lahko, da so KI za posvetlitev kože in KI, ki vsebujejo KAS za posvetlitev kože, varni, saj ne izkazujejo toksičnih lastnosti. KAS za posvetlitev so v KI prisotni v nizkih koncentracijah, te so tudi v primeru dražilnih KAS (mlečna kislina) dovolj nizke, da ne povzročajo draženja.

6. Literatura

1. Mira Čajkovac: Kozmetologija 2.izdanje, Naklada slap, Jastrebarsko, 2005: 25-31, 46-51
2. Nadir Göksügür, Yalçın Tüzün: Basic histological structure and functions of facial skin. Clinics in Dermatology (2014) 32,3–13
3. Joey E Lai-Cheong, John A McGrath: Structure and function of skin, hair and nails. Medicine 37 (5), 223-226
4. Rhonda Meys: Skin pigmentation, Medicine 45:7, 438-443
5. Whitney A. Fis, Oma Agbai, Hadar A. Lev-Tov, and Raja K. Sivamani: The use of botanically derived agents for hyperpigmentation: A systematic review. JAM ACAD Dermatol (february 2014) 70 (2), 352-365
6. Electra Nicolaidou, Andreas D. Katsambas,: Pigmentation disorders: hyperpigmentation and hypopigmentation. Clinics in Dermatology (2014) 32, 66–72
7. Stefania Briganti, Emanuela Camera and Mauro Picardo: Chemical and Instrumental Approaches to Treat Hyperpigmentation, Pigment cell res (2003) 16, 101–110.
8. Wenyuan Zhu and Jie Gao: The Use of Botanical Extracts as Topical Skin-Lightening Agents for the Improvement of Skin Pigmentation Disorders. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings 2008, 13, 20-24
9. Damjan Janeš in Kočevar Glavač: Sodobna kozmetika- sestavine naravnega izvora (Velenje 2015), 1 izdaja, 350
10. Andreas D. Katsambas, Alexander J. Stratigos: Depigmenting and Bleaching Agents: Coping with Hyperpigmentation. Clinics in Dermatology (2001) 19,483-488
11. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/hydroquinone#section=Absorption-Distribution-and-Excretion> nazadnje dostopano 13.1.2017
12. Jung Won Shin, Kyoung Chan Park: Current clinical use of depigmenting agents, Dermatologica sinica (2014) 32, 205-210
13. Jin-Mi Noh, Seon-Yeong Kwak, Hyo-Suk Seo, Joo-Hyun Seo, Byung-Gee Kim, Yoon-Sik Lee: Kojic acid–amino acid conjugates as tyrosinase inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2009) 19, 5586–5589

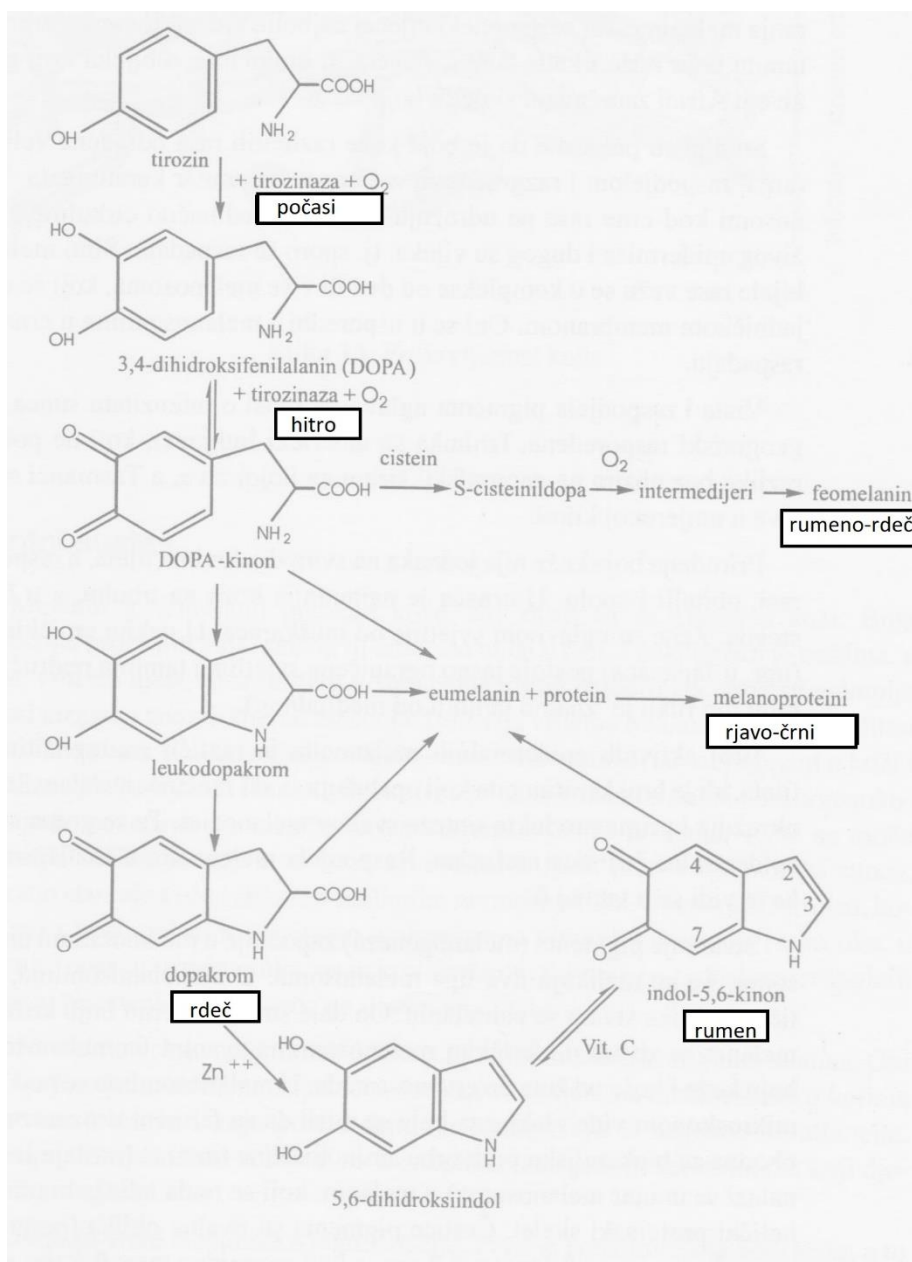
14. Jung Won Shin, Kyoung Chan Park: Current clinical use of depigmenting agents, *Dermatologica sinica* (2014) 32, 205-210.
15. Tomaž Vovk: Antioksidanti in vitamini v izdelkih za nego kože, izpostavljene ultravijoličnim žarkom, *Kozmetologija II koža in sonce: kozmetično aktivne sestavine izdelki za zaščito in nego kože* (2012) 66-67
16. http://www.uk.gov.si/fileadmin/uk.gov.si/pageuploads/pdf/Izvedbeni_sklep_Komisije_Priloga_I_sl.pdf nazadnje dostopano 28.4.2017
17. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/HTML/?uri=CELEX:32009R1223&from=SL> nazadnje dostopano 28.04.2017
18. <https://www.uradni-list.si/glasilo-uradni-list-rs/vsebina/2003-01-4832?sop=2003-01-4832> nazadnje dostopano 28.04.2017
19. <http://www.ewg.org/skindeep/> nazadnje dostopano 14.4.2017
20. <http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/index.cfm?fuseaction=search.simple> nazadnje dostopano 14.4.2017
21. <http://www.paulaschoice.com/ingredient-dictionary> nazadnje dostopano 14.4.2017
22. Depika Dwarka, Veneesha Thaver, Mickey Naidu, Neil A Koorbanally, and Himansu Baijnath: In vitro chemo-preventative activity of *Strelitzia nicolai* aril extract containing bilirubin. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines AJTCAM* (2017) 14(3), 147–156.
23. Fatma Hadrich, Mahdi El Arbi, Maher Boukhris, Sami Sayadi, Slim Cherif: Valorization of the Peel of Pea: *Pisum sativum* by Evaluation of Its Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Journal of Oleo Science* (2014) 63 (11), 1177-1183
24. http://www.ingredientstodiefor.com/item/Lactic_Acid_88_/144/ nazadnje dostopano 14.4.2017
25. Daniela Bratescu, Faterneh Mohammadi, Julius R. Zeccuhino, Fred Daneshyar: Resveratrol Ferulate Compounds, Compositions Containing The Compounds, And Methods Of Using The Same, Patent number 12/775,676, date of patent Aug. 26. 2010
26. <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1694281.html> nazadnje dostopano 14.4.2017

27. Shukranul Mawa, Khairana Husain, Ibrahim Jantan: Ficus carica L. (Moraceae): Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (2013), Article ID 974256.
28. <http://www.global-cosme.com/en/ingredients.html> nazadnje dostopano 14.4.2017
29. http://www.naolys.com/media/bright_light_madonna_lily_en.pdf nazadnje dostopano 14.4.2017
30. <http://www.cosmeticsandtoiletries.com/formulating/category/antiaging/134909173.html> nazadnje dostopano 14.4.2017
31. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out148_en.pdf nazadnje dostopano 22.6.2017
32. https://www.mattilsynet.no/kosmetikk/stoffer_i_kosmetikk/risk_profile_vitamin_e_280e.11322/binary/Risk%20Profile%20Vitamin%20E%20280e nazadnje dostopano 26.6.2017
33. <http://www.cir-safety.org/sites/default/files/tocoph122013TAR.pdf>
34. <http://www.zdravilnerastline.si/vitamini-in-minerali/44-vitamin-c-askorbinska-kislina.html> nazadnje dostopano 5.8.2017
35. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/scc_o_8a.pdf nazadnje dostopano 26.6.2017
36. <http://www.cir-safety.org/sites/default/files/ethasb122016slr.pdf> nazadnje dostopano 26.6.2017
37. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out121_en.pdf nazadnje dostopano 8.6.2017
38. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+800> nazadnje dostopano 17.7.2017
39. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out284_en.pdf nazadnje dostopano 8.6.2017
40. Final Report of the Safety Assessment of Niacinamide and Niacin, International Journal of Toxicology (2005), 24(Suppl. 5), 1–31
41. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2012/08/WC500131285.pdf nazadnje dostopano 1.7.2016

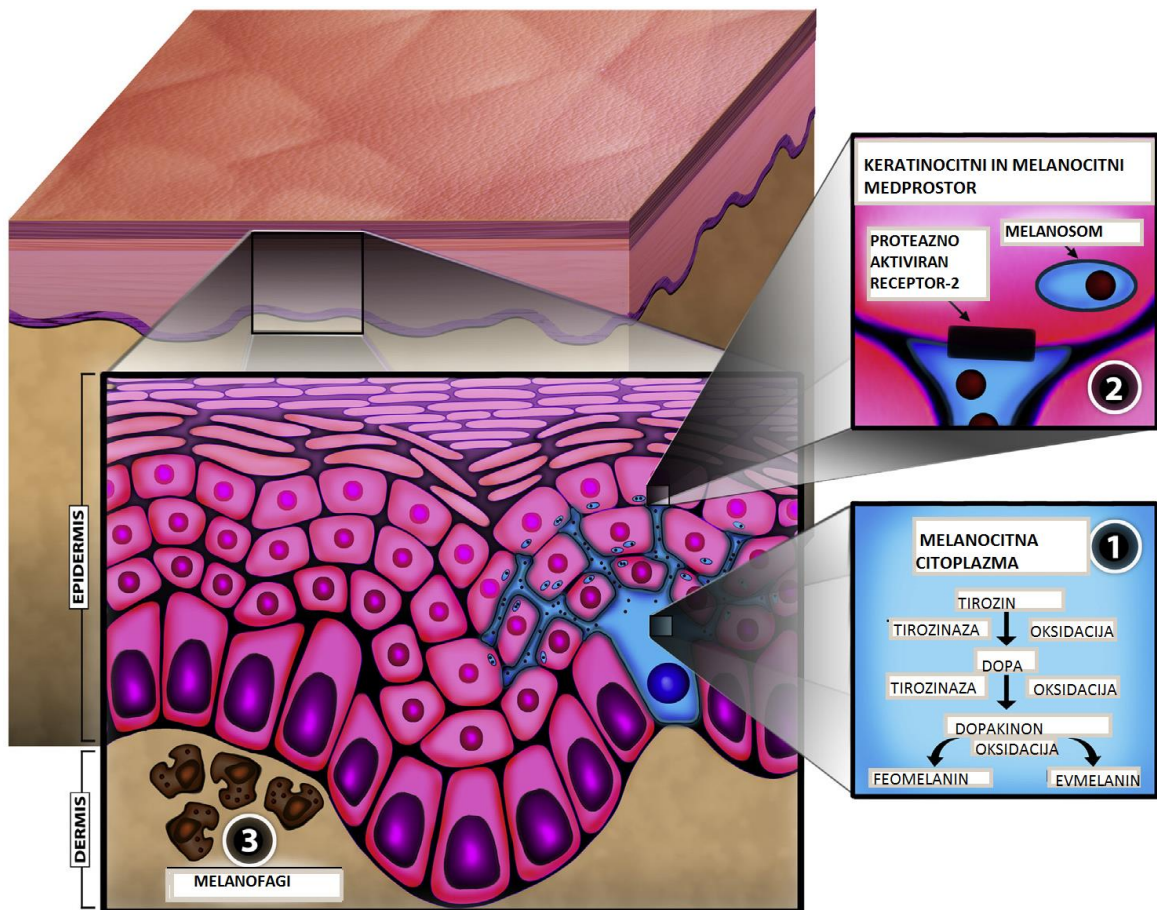
42. R.A. Isbrucker, G.A. Burdock: Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* (2006), 46, 167–192
43. S. Sunhee , J. J. Young , B. In-Jeoung , Y. Jung-Min , N. Sang-Yoon , Y. Y. Won , C. Dae-Hyun , K. Soon-Sun , R. Gyu-Seek , K. Seung-Jun , K. Yun-Bae: Effects of Licorice on Embryonic and Fetal Development in Rats. *Toxicological Research* (2005 Dec, 21) 4, 325-332
44. K. Nishioka, T. Seguchi: Contact allergy due to oil-soluble licorice extracts in cosmetic products. *Contact Dermatitis* (1999) 40, 56
45. http://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_124.pdf
nazadnje dostopano 8.6.2017
46. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_015.pdf
nazadnje dostopano 8.6.2017
47. <http://www.sciencelab.com/page/S/CTGY/22106> nazadnje dostopano 15.07.2017
48. <http://www.sciencelab.com/page/S/CTGY/10403> nazadnje dostopano 15.07.2017
49. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=IndirectAdditives&sort=Sortterm_ID&order=ASC&startrow=1&type=basic&search= nazadnje dostopano 6.08.2017
50. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=184.1408> nazadnje dostopano 6.08.2017
51. <https://www.fda.gov/downloads/food/ingredientspackaginglabeling/gras/noticeinventory/ucm264051.pdf> nazadnje dostopano 6.08.2017
52. <https://www.nrv.gov.au/nutrients/vitamin-c> nazadnje dostopano 6.08.2017
53. <http://webnet.oecd.org/HPV/UI/handler.axd?id=fd79fce6-c7e2-48ed-aead-8728c961980c> nazadnje dostopano 6.8.2017
54. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+1237>
nazadnje dostopano 6.8.2017
55. <http://www.centerchem.com/Products/DownloadFile.aspx?FileID=7221> nazadnje dostopano 15.07.2017

Priloge

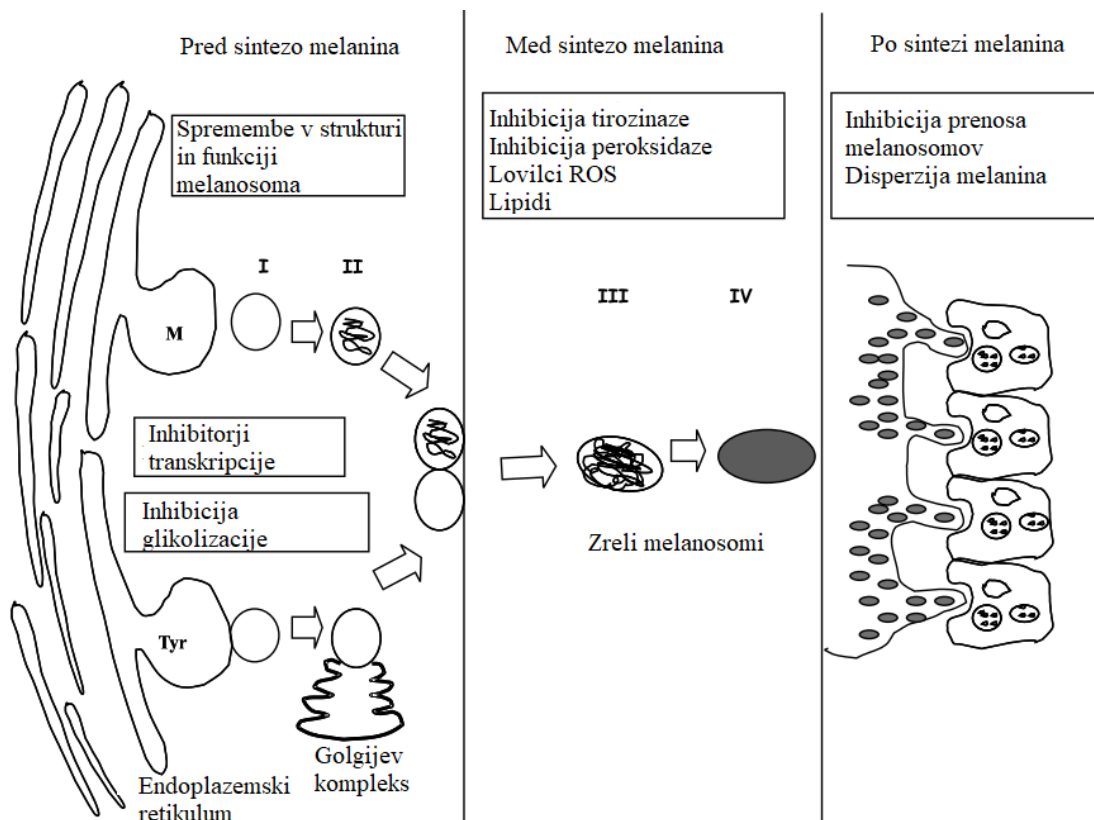
Priloga I: Slike



Slika 1: Biosinteza eomelanina in feomelanina (prirejeno po 1)



Slika 2: HP – patogeni mehanizmi (prirejeno po 5)



Slika 3: Shematski prikaz možnih pristopov, ki motijo melanogenezo (prirejeno po 7).

Priloga II: Izbrani KI za posvetlitev kože, uporabljeni v magistrski nalogi

Izdelki iz trgovin:

Izdelek 1 – Balea vital koncentrat proti pigmentnim madežem®: aqua, glycerin, **niacinamide**, caprylic/capric triglyceride, distarch phosphate, glyceryl stearate citrate, behenyl alcohol, hydrogenated coco-glycerides, prunus armeniaca kernel oil, **tocopheryl acetate**, panthenol, ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer, caprylyl glycol, **strelitzia nicolai seed aril extract**, parfum, **ascorbil tetraisoplmitate**, xanthan gum, proline, arginine, sodium lactate, glutamic acid, alanine, aleuritic acid, phenethyl alcohol, phenoxyethanol, limonene, citronellol, linalool, gerniol.

Izdelek 2 – Balea dunkle flecken aufheller®: aqua, dicaprylyl ether, glycerin, butylene glycol, methylpropanediol, alcohol denat., aluminum starch octenylsuccinate, maltodextrin, **ascorbil tetraisopalmitate**, bellis perennis flower extract, **pisum sativum extract**, sucrose dilaurate, panthenol, **tocopheryl acetate**, sodium acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, carbomer, parfum, xanthan gum, disodium cocoyl glutamate, disodium EDTA, phenoxyethanol, caprylyl glycol, alcohol, phenethyl alcohol, **tochopherol**, melissa officinalis leaf extract.

Izdelek 3 – Green line cell revive aktivacijski pomlajevalni serum®: aqua, propylheptyl caprylate, isohexadecane, hydrogenated polyisobutene, butylene glycol, glycerin, prunus armeniaca kernel oil, aluminum starch octenylsuccinate, cetearyl alcohol, polysorbate 40, glyceryl stearate, cetareth-20, cetareth-12, cetyl palmitate, ammonium acryloyldimethyltaurate/ VP copolymer, sodium polyacrylate, sodium EDTA, allantoin, silica, titanium dioxide, BHT, acetyl hexapeptide-8, rhododendron ferrugineum leaf cell culture extract, isomalt, lecithin, sodium benzoate, **lactic acid**, panthenol, bisabolol, crocus chrysanthus bulb extract, acacia senegal gum, retinyl palmitate, sodium hyaluronate, phenoxyethanol, benzoic acid, dehydroacetic acid, parfum, alpha isomethyl ionone, benzyl salicylate, butylphenyl methylpropional, coumarin, limonene, linalool.

Izdelek 4 – Green line cell revive pomlajevalna nočna krema®: aqua, propylheptyl caprylate, cocoglycerides, octyldodecanol, ethylhexyl stearate, glycerin, butylene glycol, glyceryl stearate, dicaprylyl carbonate, prunus armeniaca kernel oil, argania spinosa kernel oil, cetearyl isononanoate, aluminium starch octenylsuccinate, mangifera indica seed butter, hydrogenated polyisobutene, methyl glucose sesquistearate, diacpryl ether, sacchride isomerate, cetearyl alcohol, sodium cetearyl sulfate, crocus chrysanthus bulb extract, acacia senegal gum, acetyl hexapeptide-8, sodium hyaluronate, rhododendron ferrugineum leaf cell culture extract, isomalt, lecithin, sodium benzoate, **lactic acid**, sodium polyacrylate, sodium stearyl glutamate, polyglyceryl-3 methylglucose distearate, sodium edta, allantoin, BHT, phenoxyethanol, benzoic acid, dehydroacetic acid, parfum, alpha isomethyl ionone, benzyl salicylate, butylphenyl methylpropional, coumarin, limonene, linalool.

Izdelek 5 – Green line cell revive pomlajevalna dnevna krema®: aqua, propylheptyl caprylyl carbonate, diacpryl ether, butylene glycol, glycerin, cocoglycerides, prunus armeniaca kernel oil, octyldodecanol, ethylhexyl stearate, ethylhexyl methoxycinnamate, aluminum starch octenylsuccinate, silica, titanium dioxide, mangifera indica seed butter, hydrogenated polyisobutene, methyl glucose sesquistearate, crocus chrysanthus bulb extract, acacia senegal gum, acetyl hexapeptide-8, sacchride isomerate, sodium benzoate, **lactic acid**, sodium polyacrylate, cetearyl alcohol, sodium cetearyl sulfate, sodium stearyl glutamate, glyceryl stearate, polyglyceryl-3 methylglucose distearate, sodium edta, allantoin, BHT, phenoxyethanol, benzoic acid, dehydroacetic acid, parfum, alpha isomethyl ionone, benzyl salicylate, butylphenyl methylpropional, coumarin, limonene, linalool.

Izdelek 6 – L'Oréal pure clay glow®: aqua/water, kaolin, montmorillonite, lecithin, polysorbate 20, butylene glycol, propylene glycol, CI 77499 / iron oxides, oryza sativa starch/rice starch, moroccan lava clay, charcoal powder, caprylyl glycol, **citric acid**, xanthan gum, polyglycerin-10, polyglyceryl-10 myristate, polyglyceryl-10 stearate, sodium dehydroacetate, phenoxyethanol, chlorphenesin, linalool, limonene, parfum/fragrance.

Izdelek 7 – Clinique even better clinical dark spot corrector®: water, dimethicone, isododecane, cyclopentasiloxane, polysilicone-11, butylene glycol, **ascorbyl glucoside**, PEG-10 dimethicone, turmeric root extract, rice bran extract, grapefruit peel extract, barley extract, **wheat germ extract**, birch bark extract, cucumber fruit extract, **dimethoxytolyl propylresorcinol**, **scutellaria baicalensis root extract**, **mulberry root extract**, trametes versicolor extract, saccharomyces lysate extract, **yeast extract**, PEG-6, tromethamine, salicylic acid, polysorbate 20, cholesterol, isohexadecane, propylene glycol dicaprate,

sunflower seed cake, caffeine, **tocopheryl acetate**, acetyl glucosamine, dimethicone, **glycyrrhetic acid**, polysorbate 80, sodium hyaluronate, Di-C12-18 alkyl dimonium chloride, sodium RNA, squalane, sodium sulfite, **sodium metabisulfite**, caprylyl glycol, hexylene glycol, ammonium acryloyldimethyltaurate VP/Copolymer, acrylamide/sodium acryloyldimethyltaurate copolymer, disodium EDTA, phenoxyethanol, yellow 6, yellow 5

Izdelek 8 – Clarins vital light serum®: water, glycerin, methyl gluceth-20, butylene glycol, sodium polyacrylate, phenoxyethanol, **hexylresorcinol**, sodium hyaluronate, fragrance, biosaccharide gum-1, atractylodes lancea root extract, **citric acid**, cochlearia officinalis flowerleaf/stalk extract, **spargularia rubra extract**, cedrelopsis grevei bark extract, tiliroside, sodium benzoate, palmitoyl dipeptide-5 diaminohydroxybutyrate, **ascorbic acid**, red 4.

Izdelek 9 – Shiseido intensive anti-spot serum®: water, alcohol denat, glycerin, PEG-150, cetyl ethylhexanoate, xylitol, PEG/PPG-14/7 dimethyl ether, **potassium methoxysalicylate**, dimethicone, isostearic acid, phenoxyethanol, carbomer, butylene glycol, potassium hydroxide, lauryl betaine, xanthan gum, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, **tocopheryl acetate**, 2-O-Ethyl ascorbic acid, alcohol, parfum, disodium EDTA, **glucosyl hesperidin**, polyquaternium-51, limonene, sodium hyaluronate, angelica archangelica root extract, paeonia suffruticosa root water, rehmannia chinensis root extract, artemisia princeps leaf extract, sodium benzoate.

Izdelek 10 – Estee Lauder enlighten dark spot correcting night serum®: water, dimethicone, isododecane, polysilicone-11, butylene glycol, **ascorbyl glucoside**, PEG-10 dimethicone, **curcuma longa (turmeric) root extract**, **morus bombycis (mulberry) root extract**, gentiana lutea (gentian) root extract, cucumis sativus (cucumber) fruit extract, **scutellaria baicalensis root extract**, hordeum vulgare (Barley) extract, **yeast extract**, citrus grandis (grapefruit) peel extract, oryza sativa (rice) bran extract, salicylic acid, caffeine, hydrolyzed rice bran extract, sodium PCA, **resveratyl ferulate**, molasses extract, polysorbate 20, ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer, propylene glycol dicaprinate, sodium hyaluronate, sorbitan sesquioleate, helianthus annuus (sunflower) seedcake, xanthan gum, **tocopheryl acetate**, acetyl glucosamine, acrylamide/sodium acryloyldimethyltaurate copolymer, caprylyl glycol, hydrolyzed prunus domestica, **dimethoxytolyl propylresorcinol**, caprylic/capric triglyceride, isohexadecane, glyceryl stearate, DI-C12-18 alkyl dimonium chloride, PEG-6, polysorbate 80, polymethyl methacrylate, fragrance (parfum), sodium hydroxide, sodium sulfite, **sodium metabisulfite**, tromethamine, hexylene glycol, silica, dimethicone silylate, disodium EDTA, BHA, phenoxyethanol, titanium dioxide, mica.

Izdelek 11 – Biotherm blue therapy accelerated repairing serum visible signs of aging®: aqua, cyclohexasiloxane, glycerin, alcohol denat, hydroxypropyl tetrahydropyrantriol, propylene glycol, **ascorbyl glucoside**, polysilicone-11, polymethylsilsesquioxane, dimethicone, peg-20 methyl glucose sesquistearate, bis-peg/PPg-16/16 peg/16 dimethicone, algae extract, sorbitol, sodium citrate, sodium hyaluronate, sodium hydroxide, laminaria ochroleuca extract, adenosine, ammonium polyacryldimethyltauramide, disodium EDTA, caprylic/capric glycerides, caprylic/capric triglyceride, capryloyl salicylic acid, caprylyl

glycol, vitreoscilla ferment, **citric acid**, xanthan gum, cetyl dodecanol, phenoxyethanol, CI 77491, CI 77891, mica, linalool, limonene, citronellol, parfum.

Izdelek 12 – Le Blanc chanel serum eclaireissant unifant brightening concentrate®: water, alcohol, glycerin, diglycerin, **ascorbyl glucoside**, hemerocallis fulva flower extract, hydrolyzed conchiolin protein, sodium acrylates/ C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, butylone glycol, parfum, phenoxyethanol, sodium carbomer, sodium citrate, polyglycerin-3, polyquaternium-51, sodium hyaluronate, xanthan gum, **glycyrrhiza glabra root extract**, propylene glycol, phytic acid, sodium benzoate.

Izdelek 13 – Nivea cellular perfect skin, skin illumination®: aqua, cyclomethicone, glycerin, dimethicone, lauroyl lysine, methylpropanediol, cetearyl alcohol, **4-butylresorcinol**, magnolia officinalis bark extract, sodium stearoyl glutamate, caprylic/capric triglyceride, dimethiconol, acrylates C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, sodium polyacrylate, ethylhexylglycerin, trisodium EDTA, diethylhexyl syringylenemalonate, carbomer, sodium chloride, phenoxyethanol, limonene, linalool, citronellol, benzyl alcohol, geraniol, alpha- idomethyl ionone, parfum.

Izdelek 14 – Dvorec trebnik negovalni balsam s propolisom®: aqua, isoamyl laurate, caprylic/capric triglyceride, cetearyl alcohol, glycerin, glyceryl stearate, triethyl citrate, glyceryl stearate citrate, glyceryl caprylate, **propolis extract**, isoamyl laurate, melaleuca alternifolia leaf oil, litsea cubeba fruit oil, xanthan gum, **tocopheryl acetate**, sodium phytate, **citric acid**, sodium levulinate, sodium anisate, limonene, citral, citronellol, geraniol, linalool.

Izdelek 15 – Kozmetika Kahne krema proti pigmentnim madežem®: aqua (water), C12-15 alkyl benzoate, octorylene, glycerin, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, oriza sativa (rice) bran oil, methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol, cetyl alcohol, glyceryl stearate, polyacrylamide, phenoxyethanol, peg-75 stearate, C 13-14 isoparaffin, sucrose palmitate, parfum (fragrance), ceteth-20, steareth-20, decyl glucoside, imidazolidinyl urea, dimethicone, ethylhexylglycerin, butylene glycol, glyceryl linoleate, prunus amygdalus dulcis (sweet almond) oil, laureth-7, zinc bis-(methyl palmitoyl aspartate), phenethyl alcohol, PPG-2-methyl ether, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, **magnesium ascorbyl phosphate**, propylene glycol, xanthan gum, methylisothiazolinone, **lactic acid**, undaria pinnatifida extract.

Izdelek 16 – L'occitane brightening moisture cream®: aqua/water, glycerin, caprylic/capric triglyceride, dimethicone, lauroyl lysine, bellis perennis (daisy) flower extract, **ascorbyl glucoside**, helichrysum italicum (flower) oil, **ficus carica (fig) fruit extract**, tropaeolum majus extract, oenothera biennis (evening primrose) oil, borago officinalis seed oil, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, hydroxyethyl acrylate/sodium acryloyldimethyl taurate copolymer, sodium citrate, ethylhexylglycerin, **tocopheryl acetate**, **tocopherol**, xanthan gum, glyceryl polymethacrylate, sorbitan isostearate, polysorbate 60, sucrose palmitate, glyceryl linoleate, phenoxyethanol, chlorphenesin, potassium sorbate, sodium benzoate, hexyl cinnamal, benzyl salicylate, benzyl alcohol, linalool, limonene, citral.

Izdelek 17 – L'occitane brightening instant exfoliator – brightening extract®: aqua/water, octyldodecanol, cetearyl isononanoate, ethylhexyl stearate, cetearth-20-glyceryl stearate, cyclomethicone, glycerin, corn starch modified, cellulose, silica, cetearth-12-cetearyl alcohol, helianthus annuus (sunflower) seed oil, helichrysum italicum flower oil, bellis perennis (daisy) flower extract, disodium EDTA, ethylhexylglycerin, phenoxyethanol, chlorphenesin, o-cymen-5-ol, potassium sorbate, **tocopherol**, parfum/fragrance, hexyl cinnamal, benzyl salicylate, alpha-isomethyl ionone, linalool, CI77007/ultramarines.

Izdelek 18 – Fade out original brightening moisturiser SPF®: voda, sodium lactate, ethylhexyl methoxycinnamate, **lactic acid**, cetearyl alcohol, glyceryl stearate, PEF-100 stearate, dimethicone, glycerin, stearyl alcohol, hexylene glycol, **niacinamide**, decyl oleate, phenoxyethanol, cetearth 20, titanium dioxide, parfum (fragrance) sodium saccharin, ethylhexylglycerin, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, morus nigra leaf extract, alumina, disodium EDTA, glyceryl oleate, **tocopherol**, **ascorbyl palmitate**, dimethicone, **citric acid**, citronellol, linalool, hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde.

Izdelek 19 – Fade out extra care SPF®: voda, ethylhexyl methoxycinnamate, sodium lactate, homosalate, **lactic acid**, cetearyl alcohol, hexylene glycol, **niacinamide**, titanium dioxide, cetearth 20, phenoxyethanol, parfum (fragrance), sodium saccharid, **tocopheryl acetate**, panthenol, alumina, ethylhexylglycerin, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, morus nigra leaf extract, **arbutin**, disodium EDTA, dimethicone, glyceryl oleate, **ascorbyl palmitate**, **tocopherol**, **ascorbic acid polypeptide**, **citric acid**, citronellol, linalool, hydroxyisohexyl 3-cyclohexene.

Izdelek 20 – Eubos antipigmentna krema za roke®: aqua, C12-15 alkyl benzoate, neopentyl glycol diheptanoate, cetearyl alcohol, propylene glycol, glycerin, dibutyl adipate, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate, ethylhexyl triazone, **sodium ascorbyl phosphate**, butyrospermum parkii (shea) butter, **niacinamide**, **tocopheryl acetate**, cetearyl glucoside, cetyl alcohol, glyceryl stearate, **saxifraga sarmentosa extract**, **vitis vinifera fruit extract**, morus bombycis root extract, **scutellaria baicalensis root extract**, allantoin, tetrasodium iminodisuccinate, ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer, phenoxyethanol, sodium hyaluronate, **ubiquinone**, xanthan gum, butylene glycol, sodium sulfite, **sodium metabisulfite**, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, **citric acid**, parfum, citral, citronellol, geraniol, linalool, alpha-isomethyl ionone.

Izdelek 21 – Krasna anti age dnevna krema s teranom®

: aqua, wine, glycerin, octyldodecanol, methyl glucose sesquistearate, butyrospermum parkii butter, squalane, stearyl alcohol, isopropyl palmitate, cetearyl alcohol, sodium hyaluronate, cetyl palmitate, prunus armeniaca kernel oil, simmondsia chinensis oil, polyglyceryl-3 methylglucose distearate, myristyl myristate, **tocopheryl acetate**, propylene glycol, phenoxyethanol, benzoic acid, dehydroacetic acid, **resveratrol**, parfum, limonene, lavandula intermedia oil, linalool.

Izdelek 22 – Himalaya herbals anti wrinkle cream®: aqua, glycerin, aloe barbadensis leaf juice, lens esculenta seed extract, isopropyl myristate, cetearyl alcohol& cetearyl glucoside, caprylic/capric triglyceride, sorbitan stearate, cetearyl ethylhexanoate, cetyl alcohol, cetearyl alcohol, glyceryl stearate SE, ethylhexyl stearate, glyceryl hydroxystearate, **glycyrrhiza**

glabra root extract, vitis vinifera fruit extract, cetyl palmitate, citrus limon peel extract, carbomer, phenoxyethanol, parfum, methylparaben, xanthan gum, propylparaben, sodium hydroxide, disodium EDTA, hexyl cinnamal, butylphenyl methylpropional, benzyl salicylate, linalool, hydroxycitronellal.

Izdelek 23 – Kozmetika Kahne stabilni vitamin C: aqua, **sodium ascorbyl phosphate**, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin.

Izdelki iz lekarne:

Izdelek 24 – Eucerin even brighter dnevna krema®: aqua, homosalate, octocrylene, glicerin, butyl methoxydibenzoylmethane, ethylhexyl salicylate, glyceryl glucoside, glyceryl stearate citrate, cetearyl alcohol, phenylbenzimidazole sulfonic acid, butyrospermum parkii butter, lauroyl lysine, **4-butylresorcinol**, dimethicone, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, sodium carbomer, trisodium EDTA, 1,2-hexanediol, phenoxyethanol, piroctone olamine, parfum.

Izdelek 25 – Avene D-pigment light dark spot lightener®: water (aqua), triethylhexanoin, cyclomethicone, avene thermal spring water, cetearyl alcohol, cetareth-20, polymethyl methacrylate, cetareth-33, caprylic/capric triglyceride, ammonium acryloyl dimethyltaurate/VP copolymer, benzoic acid, BHT, disodium EDTA, oenothera biennis (evening primrose) oil, phenoxyethanol, phenylethyl resorcinol, red 33 (CI 17200), retinal, silica, sodium hydroxide, **tocopherol**, tocopherol glucoside.

Izdelek 26 – Avene D-pigment rich dark spot lightener®: water (aqua), caprylic/capric triglyceride, octyldodecanol, avene thermal spring water, cetearyl alcohol, glycerin, behenyl alcohol, ammonium acryloyl dimethyltaurate/VP copolymer, cetareth-33, dipentaerythrityl pentaisononanoate, benzoic acid, BHT, disodium EDTA, oenothera biennis (evening primrose) oil, phenoxyethanol, phenylethyl resorcinol, red 33 (CI 17200), retinal, silica, sodium hydroxide, **tocopherol**, tocopherol glucoside.

Izdelek 27 – La roche posay effaclar duo anti-marks®: aqua/water, glycerin, dimethicone, isocetyl stearate, **niacinamide**, isopropyl lauryl sarcosinate, silica, ammonium polyacryloyldimethyltauramide/ammonium polyacryloyldimethyl taurate, methyl methacrylate crosspolymer, potassium cetyl phosphate, zinc PCA, glyceryl stearate SE, isohexadecane, sodium hydroxide, myristyl myristate, 2-oleamido-1,3-octadecanediol, nylon-12, poloxamer 338, **linoleic acid**, disodium EDTA, capryloyl salicylic acid, caprylyl glycol, xanthan gum, polysorbate 80, acrylamide/sodium acryloyldimethyltaurate copolymer, **pentaerythrityl tetra-di-T-butyl hydroxyhydrocinnamate**, salicylic acid, piroctone olamine, parfum/fragrance.

Izdelek 28 – La roche posay effaclar duo unifiant, light shade®: aqua/water, glycerin, dimethicone, isocetyl stearate, **niacinamide**, isopropyl lauroyl sarcosinate, ammonium polyacryloyldimethyl taurate, methyl methacrylate crosspolymer, T-butyl alcohol, sodium hydroxide, oleic acid, salicylic acid, silica silylate, poloxamer 338, nylon-12, polysorbate 80, zinc PCA, **linoleic acid**, **pentaerythrityl tetra-di-t-butyl hydroxyhydrocinnamate**, isohexadecane, 2-oleamido-1,3-octadecanediol, capryloyl salicylic acid, caprylyl glycol, piroctone olamine, myristyl myristate, acrylamide/sodium acryloyldimethyltaurate copolymer, parfum/fragrance, sorbitan oleate, disodium EDTA, potassium cetyl phosphate,

BHT, glyceryl stearate SE [+/- may contain CI 77891 / titanium dioxide, CI 77491, CI 77492, CI 77499 / iron oxides, mica].

Izdelek 29 – Eucerin even brighter nočna krema®: aqua, octocrylene, glicerin, isopropyl palmitate, glyceryl glucoside, glyceryl stearate citrate, butyrospermum parkii butter, dimethicone, hydrogenated coco-glycerides, methylpropanediol, butylene glycol, caprylic/capric triglyceride, cyclomethicone, lauroyl lysine, pantenol, cetyl alcohol, stearyl alcohol, **4-butylresorcinol**, **glycyrrhetic acid**, sodium carbomer, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, trisodium EDTA, diethylhexyl syringyldenemalonate, BHT, ethylhexylglycerin, 1,2-hexanediol, phenoxyethanol, parfum.

Izdelek 30 – La roche posay effaclar duo unifiant, dark shade®: aqua/ water, glycerin, dimethicone, isocetyl stearate, **niacinamide**, isopropyl lauroyl sarcosinate, ammonium polyacryloyldimethyl taurate, methyl methacrylate crosspolymer, T-butyl alcohol, sodium hydroxide, oleic acid, salicylic acid, silica silylate, poloxamer 338, nylon-12, polysorbate 80, zinc PCA, **linoleic acid**, **pentaerythrityl tetra-di-butyl hydroxyhydrocinnamate**, isohexadecane, 2-oleamido-1,3-octadecanediol, capryloyl salicylic acid, caprylyl glycol, piroctone olamine, myristyl myristate, acrylamide/ sodium acryloyldimethyltaurate copolymer, parfum/fragrance, sorbitan oleate, disodium EDTA, potassium cetyl phosphate, BHT, glyceryl stearate SE [+/-may contain CI 77891 / titanium dioxide, CI 77491, CI 77492, CI 77499 / iron oxides, mica].

Izdelek 31 – Vichy ideal soleil SPF 50+®: aqua/water, titanium dioxide, homosalate, silica, ethylhexyl salicylate, ethylhexyl triazone, C12-15 alkyl benzoate, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenty triazine, drometrizole trisiloxane, butyl methoxydibenzoylmethane, glycerin, aluminum starch octenylsuccinate, octocrylene, pentylene glycol, styrene/acrylates copolymer, CI 77491, CI 77492, CI 77499 / iron oxides, potassium cetyl phosphate, parfum/fragrance, caprylyl methicone, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, aluminum hydroxide, butylene glycol, caprylyl glycol, cinnamomum cassia bark extract, dimethicone, disodium EDTA, inulin lauryl carbamate, PEG-8 laurate, phenoxyethanol, phenylethylresorcinol, potierium officinale root extract, stearic acid, stearyl alcohol, terephthalylidene dicamphor sulfonic acid, titanium dioxide [NANO] / titanium dioxide, **tocopherol**, triethanolamine, xanthan gum, zingiber officinale root extract / ginger root extract.

Izdelek 32 – Eucerin even brighter konzentrat®: aqua, cyclomethicone, octocrylene, glycerin, methylpropanediol, glyceryl glucoside, distarchphosphate, alcohol denat., dimethicone, glyceryl stearate citrate, isopropyl palmitate, cetyl alcohol, **4-butylresorcinol**, **glycyrrhetic acid**, caprylic/ capric triglyceride, dimethiconol, sodium carbomer, diethylhexyl syringyldenemalonate, BHT, ethylhexylglycerin, phenoxyethanol, parfum.

Izdelek 33 – Vichy idealia BB cream SPF25, light shade®: aqua / water, isononyl isononanoate, glycerin, octocrylene, homosalate, ethylhexyl salicylate, dimethicone, diisopropyl sebacate, sucrose tristearate, styrene/acrylates copolymer, polysorbate 61, PEG-12 dimethicone, PEG-8 laurate, carbomer, saccharomyces/xylinum/ black tea ferment, triethanolamine, dimethiconol, parfum/fragrance, sodium stearyl glutamate, sodium hyaluronate, alumina, phenoxyethanol, **tocopheryl acetate**, disodium EDTA, caprylyl

glycol, biosaccharide gum-1, xanthan gum, [+/- may contain: CI 77891 / titanium dioxide, CI 77491, CI 77492, CI 77499 / iron oxides, mica]

Izdelek 34 – Vichy idealia BB cream SPF25, medium shade®: aqua /water, isononyl isononanoate, glycerin, octocrylene, homosalate, ethylhexyl Salicylate, dimethicone, diisopropyl sebacate, sucrose tristearate, styrene/acrylates copolymer, polysorbate 61, PEG-12 dimethicone, PEG-8 laurate, carbomer, saccharomyces/xylinum/ black tea ferment, triethanolamine, dimethiconol, parfum/fragrance, sodium stearyl glutamate, sodium hyaluronate, alumina, phenoxyethanol, **tocopheryl acetate**, disodium EDTA, caprylyl glycol, biosaccharide gum-1, xanthan gum, [+/- May contain: CI 77891 / titanium dioxide, CI 77491, CI 77492, CI 77499 / iron oxides, mica]

Izdelek 35 – Ducray melascreen depigmentant®: water (aqua), **azelaic acid**, caprylic/capric triglyceride, dicaprylyl ether, cetearyl alcohol, cyclopentasiloxane, glycolic acid, cyclohexasiloxane, glyceryl stearat, cetareth-33, sodium hydroxide, benzoic acid, disodium EDTA, **tocopherol**.

Izdelek 36 – Ducray melascreenuv SPF50+, light cream®: water (aqua), C12-15 alkyl benzoate, methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol (nano), cetearyl isononanoate, diisopropyl adipate, isodecyl neopentanoate, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, diethylhexyl butamido triazone, aluminium starch octenylsuccinate, butyl methoxydibenzoylmethane, potassium cetyl phosphate, decyl glucoside, **bis-ethylhexylhydroxydimethoxy benzylmalonate**, C10-18 triglycerides, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, benzoic acid, caprylyl glycol, disodium EDTA, glyceryl behenate, glyceryl dibehenate, propylene glycol, silica, sodium hydroxide, tribehenin, xanthan gum.

Izdelek 37 – Ducray melascreenuv SPF50+, rich cream®: water (aqua), C12-15 alkyl benzoate, methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol (nano), diisopropyl adipate, pentaerythrityl tetracaprylate/tetracaprate, dicaprylyl carbonate, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, diethylhexyl butamido triazone, aluminum starch octenylsuccinate, butylene glycol, butyl methoxydibenzoylmethane, potassium cetyl phosphate, decyl glucoside, bis-ethylhexyl hydroxydimethoxy benzylmalonate, C10-18 triglycerides, glyceryl stearate, PEG-100 stearate, VP/eicosene copolymer, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, benzoic acid, caprylyl glycol, disodium EDTA, glyceryl behenate, glyceryl dibehenate, propylene glycol, sodium hydroxide, **tocopherol**, tribehenin, xanthan Gum.

Izdelek 38 – Ducray melascreen Eclat, rich cream SPF15®: water (aqua), carthamus tinctorius (safflower) seed oil, ethylhexyl methoxycinnamate, octyldodecanol, **ascorbyl glucoside**, **niacinamide**, dimethicone, PEG-4, methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol, glycerin, arachidyl alcohol, glyceryl stearate, PEG-100 stearate, hydroxyethyl acrylate/sodium acryloyldimethyl taurate copolymer, behenyl alcohol, arachidyl glucoside, BHT, **citric acid**, decyl glucoside, disodium EDTA, fragrance (parfum), o-phenylphenol, PEG-7 trimethylolpropane coconut ether, phenoxyethanol, polyisobutene, propylene glycol, sodium citrate, sodium hydroxide, sorbitan isostearate, xanthan gum.

Izdelek 39 – Ducray melascreen Eclant, light cream SPF15®: water (aqua), ethylhexyl methoxycinnamate, **ascorbyl glucoside**, caprylic/capric triglyceride, isohexadecane, **niacinamide**, triethanolamine, polysorbate 40, methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol, polymethyl methacrylate, sorbitan palmitate, BHT, butylparaben, carbomer, cetyl alcohol, chlorphenesin, decyl glucoside, fragrance (parfum), o-phenylphenol, phenoxyethanol, propylene glycol, xanthan gum.

Izdelek 40 – NUXE Nuxuriance® ultra serum redensifiant anti-age®: aqua/water, glycerin, prunus amygdalus dulcis (sweet almond) oil, caprylic/capric triglyceride, dicaprylyl ether, C14-22 alcohols, hydroxyethyl urea, parfum/fragrance, **tocopherol**, phenoxyethanol, C12-20 alkyl glucoside, ethylhexylglycerin, acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer, dehydroacetic acid, **bougainvillea glabra leaf cell extract**, sodium gluconate, sodium stearyl glutamate, xanthan gum, butylene glycol, hyaluronic acid, sodium hydroxide, ammonium lactate, **ascorbyl glucoside**, olea euripea (olive) leaf extract, zinc PCA, undaria pinnatifida extract, plankton extract, theobroma cacao (cocoa) callus powder, crocus sativus flower extract, benzyl alcohol, ascorbic acid, benzyl salicylate, linalool, coumarin, geraniol, citronellol [N3201/A].

Internet:

Izdelek 41 – Neowhite serum®: voda (aqua), trikaprilin (tricaprylin), skvalen (squalane), butan (butane), arganovo olje (argania spinosa kernel oil), jojobino olje (simmondsia chinensis seed oil), C14-22 Alcohol, C12-20 alkil glukozid (c12-20 alkyl glucoside), dimetil eter (dimethyl ether), glicerin (glycerin), pantenol (panthenol), izvleček oljčnih listov (olea europaea leaf extract), izvleček oliv (olea europaea fruit extract), **natrijev askorbil fosfat (sodium ascorbyl phosphate)**, **tokoferil acetat (tocopheryl acetate)**, alantoin (allantoin), ksantan gumi (xanthan gum), dišave (parfum), benzil salicilat (benzil salicilat), citronello, geraniol, heksil cinamal (hexyl cinnamal), ogljikov dioksid (carbon dioxide).

Izdelek 42 – Neowhite mask®: voda (aqua), olje mareličnih pešk (prunus armeniaca kernel oil), lauril glukozid (lauryl glucoside), olje semen oljne repice (brassica campestris seed oil), **olje semen vinske trte (vitis vinifera seed oil)**, kaolin, butan (butane), cetil palmitat (cetyl palmitate), arganovo olje (argania spinosa kernel oil), jojobino olje (simmondsia chinensis seed oil), karitejevo maslo (butyrospermum parkii), glicerin (glycerin), pantenol (panthenol), cetil alkohol (cetyl alcohol), dimetil eter (dimethyl ether), izvleček oljčnih listov (olea europaea leaf extract), izvleček oliv (olea europaea fruit extract), **natrijev askorbil fosfat (sodium ascorbyl phosphate)**, **tokoferil acetat (tocopheryl acetate)**, ksantan gumi (xanthan gum), dišave (parfum), benzil salicilat (benzil salicilat), citronello, geraniol, heksil cinamal (hexyl cinnamal), ogljikov dioksid (carbon dioxide).

Izdelek 43 – Just crema schiarente antimacchie®: aqua, homosalate, caprylic/capric triglyceride, cetearyl alcohol, hydrogenated palm kernel glycerides, glycerin, butyl methoxydibenzoylmethane, octyldodecanol, potassium cetyl phosphate, dimeticone, octocrylene, panthenol, lepidium sativum sprout extract, **soy isoflavones**, **tocopherol**, arginin, lecithin, hydrogenated palm glycerides, hydrogenated palm glycerides citrate, polyglyceryl-2 dipolyhydroxystearate, polysorbate 80, acrylates/ C10-30 akril acrylate

crosspolymer, p-anisic acid, xanthan gum, microcrystalline cellulose, ethylhexylglycerin, tetrasodium glutamate diacetate, cellulose gum, phenoxyethanol, alcohol denat., parfum.

Izdelek 44 – C20 tetraforce aktivator®: squalane (olive), **tetrahexyldecyl ascorbate** (Vitamin C), rosa canina (rosehip) seed extract, **punica granatum (pomegranate) seed extract**, rosa canina (rosehip) fruit extract, **thioctic acid (alpha lipoic acid)**, **ubiquinone** (CoQ10), **tocopherol**, **tocotrienol**, **ascorbyl palmitate** (Vitamin C).

Izdelek 45 – Derma E evenly radiant® tonik: water (aqua), glycerin, panthenol, carica papaya (papaya) fruit extract, allantoin, cucumis sativus (cucumber) fruit extract, salix alba (willow) bark extract, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, **niacinamide** (Vitamin B3), caffeine, **arctostaphylos uva ursi (bearberry) leaf extract**, organic hamamelis virginiana (witch hazel) extract, rosa canina (rose hips) fruit extract, **rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract**, **lilium candidum (madonna lily) leaf cell extract**, organic chamomilla recutita (matricaria) flower extract, **organic camellia sinensis (green tea) leaf extract**, organic aloe barbadensis leaf extract, polysorbate, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin, citrus sinensis (sweet orange) essential oil.

Izdelek 46 – Derma E evenly radiant® nočna krema: water (aqua), propanediol, glycerin, capric/caprylic triglyceride, **niacinamide**, cetearyl olivate, sorbitan olivate, cetyl alcohol, glyceryl stearate citrate, glyceryl stearate SE, **alpha-arbutin**, sodium hyaluronate (hyaluronic acid), **tocopheryl acetate** (Vitamin E), epilobium angustifolium (Canadian Willowherb™) extract, **lilium candidum (madonna lily) extract**, **ascorbyl palmitate** (C-ester), retinyl palmitate (Vitamin A), **arctostaphylos uva ursi (bearberry) leaf extract**, **vitis vinifera (grape) seed oil**, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, **organic camellia sinensis (green tea) leaf extract**, organic olea europaea (olive) fruit oil, potassium sorbate, xanthan gum, polysorbate, potassium cetyl phosphate, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin, citrus fragrance.

Izdelek 47 – Derma E evenly radiant® očesna krema: water (aqua), glycerin, propanediol, capric/caprylic triglyceride, **niacinamide**, cetearyl olivate, sorbitan olivate, glyceryl stearate SE, cetyl alcohol, xanthan gum, pinus pinaster (Pycnogenol®) bark extract, sodium hyaluronate (hyaluronic acid; Actimoist® Bio-1), **tocopheryl acetate** (Vitamin E), retinyl palmitate (Vitamin A), achillea millefolium (yarrow) extract, hamamelis virginiana (witch hazel) extract, epilobium angustifolium (Canadian Willowherb™) extract, **lilium candidum (madonna lily) extract**, **arctostaphylos uva ursi (bearberry) leaf extract**, prunus persica (peach) seed extract, aesculus hippocastanum (horse chestnut) seed extract, caffeine, arnica montana flower extract, **organic camellia sinensis (green tea) leaf extract**, glyceryl stearate citrate, triethoxycaprylylsilane zinc oxide, zinc oxide, potassium sorbate, potassium cetyl phosphate, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin.

Izdelek 48 – Derma E skin lighten®: water (aqua), caprylic/capric triglyceride, stearic acid, cetyl alcohol, stearyl alcohol, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, silybum marianum (milk thistle) extract, zinc oxide, **alpha-arbutin**, **ascorbyl palmitate** (C-ester), glyceryl stearate and PEG-100 stearate, **tocopheryl acetate** (Vitamin E), retinyl palmitate (Vitamin A), panax ginseng root extract, sodium hydroxide, dimethicone, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin, potassium sorbate.

Izdelek 49 – Derma E evenly radiant overnight peel®: water (aqua), glycolic acid, **lactic acid**, malic acid, glycerin, caprylic/capric triglyceride, cetearyl alcohol, cetareth 20, stearic acid, glyceryl stearate and PEG-100 stearate, cetyl alcohol, xanthan gum, citrus medica limonum (lemon) fruit extract, passiflora incarnata (passion) fruit extract, **ascorbyl palmitate** (C-ester), organic simmondsia chinensis (jojoba) seed oil, **organic camellia sinensis (green tea) leaf extract**, dimethicone, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin, potassium sorbate.

Izdelek 50 – Derma E evenly radiant day cream SPF15®: water (aqua), propanediol, carthamus tinctorius (safflower) seed oil, glycerin, capric/caprylic triglyceride, **niacinamide**, cetearyl olivate, sorbitan olivate, cetyl alcohol, glyceryl stearate, ethylhexyl palmitate, **tocopheryl acetate** (Vitamin E), **ascorbyl palmitate** (C-Ester), **arctostaphylos uva ursi (bearberry) leaf extract**, **vitis vinifera (grape) seed oil**, epilobium angustifolium (Canadian Willowherb™) extract, **lilium candidum (madonna lily) extract**, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, **organic camellia sinensis (green tea) leaf extract**, organic olea europaea (olive) fruit oil, glyceryl stearate citrate, potassium sorbate, xanthan gum, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin, citrus fragrance. Ethylhexyl Methoxycinnamate (Octinoxate) 4.5%, Zinc Oxide 4.41%.

Izdelek 51 – Derma E evenly radiant® čistilo za obraz: water (aqua), glycerin, disodium laureth sulfosuccinate, cocamidopropyl hydroxysultaine, sodium cocoamphoacetate, sodium lauroamphoacetate, PEG-150 distearate, allantoin, **ascorbyl palmitate** (C-ester), glycolic acid, **lilium candidum (madonna lily) extract**, pinus, retinyl palmitate (Vitamin A), **niacinamide**, **arctostaphylos uva ursi (bearberry) leaf extract**, **glycyrrhiza glabra (licorice) root extract**, pantheol, potassium sorbate, polysorbate, phenoxyethanol, ethylhexylglycerin, citrus fragrance.