

A kvercetin és a rutin mint lehetséges napvédő hatóanyagok: A hatékonyság meghatározása egy in vitro módszerrel

Benjamin Choquet, Céline Couteau, Eva Papis, and Laurence J. M. Coiffard*

Faculty of Pharmacy, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, LPiC, SMAB, EA2160, 1 Rue G. Veil–BP 53508,

Nantes, F-44000 France

Beérkezett: December 18, 2007

Mivel a flavonoidokról köztudott, hogy fényvédő (UV)B tulajdonságokkal rendelkeznek olyan növényekben, amelyek tartalmazzák őket, tanulmányozás céljára kiválasztottuk a kvercetin (1) és a rutint (2) mint olyan hatóanyagokat, amelyeket lehetséges volna alkalmazni fényvédő készítményekben. Erről a két hatóanyagról bebizonyosodott, hogy hasonlóképpen viselkednek. Amikor beépítettük őket vízben-olaj emulziókba 10% (w/w) koncentrációban 1 és 2 hasonló napvédő faktor (SPF) értékeket mutatott, mint a homoszalát, amely egy standard vegyület. Ez a két flavonoid egy el nem hanyagolható szintű fényvédő hatást is biztosított az UVA skálán is. Amikor titándioxiddal kombinálva alkalmaztuk, az elért SPF 30 körül volt.

Az ultraibolya sugárzásnak való túlzott kitettség bőrkárosodást okozhat. Ez lehet azonnali és hosszú távú, olyan hatásokkal, amelyek a leégéstől a korai ráncosodásig, illetve a rák kialakulásáig terjedhetnek. 1-3

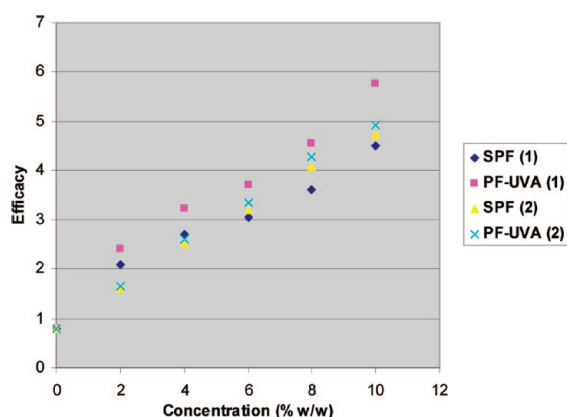


Figure 1. Influence of compounds 1 and 2 on SPF and PF-UVA.

Table 1. Photostability of 1 and 2

	compound 1 (mean \pm SD)	compound 2 (mean \pm SD)
SPF(t_0)	4.52 \pm 0.38	4.72 \pm 0.20
SPF (t_{120})	5.64 \pm 0.46	4.42 \pm 0.13
PF-UVA (t_0)	5.77 \pm 0.55	4.92 \pm 0.20
PF-UVA (t_{120})	6.15 \pm 0.58	4.59 \pm 0.13

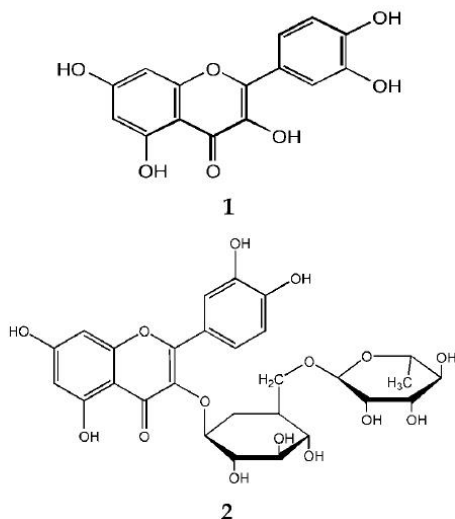
A fényvédőket lehet alkalmazni éveken át is a sugárzásnak kitett területeken, hogy megvédjük a bőrt az ultraibolya fény károsító hatásaitól. Habár a fényvédő krémek alapvetően fontosak, egyeseknek mégis vannak olyan káros hatásai, mint például az ösztrogén tevékenység 4,5 valamint a fényallergia. 6 Éppen ezért a jelen tanulmányt azért végeztük el, hogy teszteljük azt a feltételezést, hogy a kvercetin vagy 32,4-dihidroxi-flavonol (1) és a rutin vagy kvercetin-3-O-rutinozid (2) rendelkezhetnek-e lehetséges fényvédő tevékenységgel. A flavonoidok egy olyan jelentős természetes vegyületosztályt alkotnak, amelyeket antioxidáns, 7,8, maláriaellenes, 9, gyulladásgátló, 10 és baktériumölő tevékenységükről ismerünk nagyon jól. Ennek a kísérletnek az volt a célja, hogy egy in vitro módszer keretében felderítse az 1 és 2 tulajdonságait, valamint hogy meghatározza ezek hatásait a szerves UV-szűrőkkel összefüggésben, és mindkettőjük napvédő faktorának (SPF) tekintetében továbbá az UVA (PF-UVA) védő faktor értékeiket a helyileg alkalmazott napvédő készítményekben. Az 1 és 2 vegyületekben mért spektrumok a jelen kísérletben nagyon hasonlóak voltak, és 373, illetve 341 nm felszívódási csúcsokat nyújtottak. Mindegyik vegyület tekintetében tanulmányoztuk a hatékonysági koncentrációs hatást az UVB, illetve UVA skálán (1. ábra).

Ha összehasonlítjuk az **1** és **2** –t azokkal az UVB szűrőkkel, amelyeket jelenleg engedélyeznek az Európai Unióban, meg lehet állapítani, hogy amikor 10 %-os (w/w) koncentrációban alkalmazzák őket, a kilencedik helyezést érik el a sorban (9/18), egy olyan hatékonysággal, amely a kinyert homoszalát hatékonyságához mérhető (ez egy olyan referencia szűrő, amelyet az FDA standardok meghatározásához alkalmaznak). Amíg az UVA elleni hatékonyságuk vonatkozásában mindkettő érdeklődést kelthet (7-ből 5-ig rangsorolt szűrőként engedélyezettek), ugyanakkor mindannyian hasonló szintű védelmet nyújtanak úgy az UVB, mint az UVA ellen, az SPF/PF-UVA arányt 3-nál kevesebbé teszik. Ezek az eredmények megerősítik, hogy a flavonoidok használatának vonzerejét fényvédő hatóanyagokként a növényekben. 12 2 órányi 650 W/m² sugárzás után **1** és **2** egyaránt fénystabilnak mutatkozott. Valójában az **1** és **2** alapú napvédő termék hatékonyságának több mint 90 %-át megőrizte (1. táblázat). Abból a célból, hogy olyan napvédő termékeket alakítsunk ki, amelyek nem tartalmaznak szabályozott szerves szűrőket, különféle kombinációkat kivitelezünk.

A kombinációk három sorozatát úgy készítettük el, hogy ugyanolyan százalékos arányban alkalmaztuk az összetevőket, (10% w/w): először csak flavonoidokat, majd ezek kombinációját titándioxiddal, és végül cinkoxiddal. Ezzel a módszerrel mindegyik kombinációt kiegészítő hatásúvá, szinergikus/kölcsönhatásúvá vagy nem-kompatibilissá/alkalmatlanná tettük. A 2. táblázat megmutatja, hogy az **1** és **2** kombinációjából eredő kölcsönhatást értük el úgy az UVB, mint az UVA területén.

Table 2. Effect of Combinations on SPF and PF-UVA

	compound 1 (10% w/w)	compound 2 (10% w/w)	TiO ₂ (10% w/w)	ZnO (10% w/w)
compound 1 (10% w/w)		SPF = 12.34 ± 2.08	SPF = 29.70 ± 4.96	SPF = 9.97 ± 1.67
compound 2 (10% w/w)	SPF = 12.34 ± 2.08	PF-UVA = 14.61 ± 2.57	PF-UVA = 16.42 ± 2.34	PF-UVA = 10.28 ± 1.63
	PF-UVA = 14.61 ± 2.57		SPF = 34.29 ± 8.31	SPF = 11.25 ± 3.31
			PF-UVA = 16.25 ± 2.71	PF-UVA = 9.75 ± 2.81



North Sutton, NH). The calculations were carried out according to the following equations:

$$\text{SPF} = \sum_{290}^{400} E_{\lambda} I_{\lambda} \Delta_{\lambda} / \sum_{290}^{400} E_{\lambda} I_{\lambda} T_{\lambda} \Delta_{\lambda} \quad (1)$$

$$\text{PF-UVA} = \sum_{290}^{400} E_{\lambda} I_{\lambda} \Delta_{\lambda} / \sum_{290}^{400} E_{\lambda} I_{\lambda} T_{\lambda} \Delta_{\lambda} \quad (2)$$

Az **1** kombinációja titándioxiddal is kölcsönhatásszerű lett (2. táblázat). Ez az eredetileg 30-as fényvédő hatású terméket, mely (SPF/PF-UVA arány az 1.81-ből) volt, jó védőhatásúvá tette az UV teljes skáláján, amely valószínűleg nemkívánatos hatásokat okozott volna. Hasonlóképpen a **2** kombinációja titándioxiddal érdekes eredményeket mutatott (2. táblázat). A cinkdioxiddal elvégzett kombináció tisztán additív hatásokat mutatott (2. táblázat). Habár az elért SPF értékek (10 az **1** esetében és 11 a **2**-nél) csupán mérsékelt szintű napvédelmet nyújtottak. Mivel a terméket napvédő hatására nézve csak 15-ös értékűnek ítéltük meg hatékonyságát tekintve, ezeket a kombinációkat nem találtuk érdemesnek további vizsgálatokra, hiszen a cinkoxid használata egyébként is sokkal nehezebb, mint a titándioxidé.

Kísérleti részleg

Általános kísérleti eljárások.

A vizes oldatokat 200 és 400 nm hullámhosszon figyeltük meg egy kettős sugarú spektrofotométer (Hitachi UV-látható, U-2000 modell) használatával. A spektrumokat egy tiszta vízminta ellen mértük kvarc cellákban 1 cm-es optikai ösvényhosszon.

Vegyszerek.

A kvercetint (**1**) és a rutint (**2**) Fisher Bioblock (Illkirch, Germany). Dimethicone (Abil WE 09)-ből nyertük ki. A dimetikont Goldschmidt (Montigny-le-Bretonneux, France)-ből nyertük ki. A cetiol HE-t, sztearinsavat, a glicerint, a parabéneket és a trietanol-amint (TEA) a Coopertől (Melun, Franciaország) vásároltuk. A xantán gumit (Keltrol BT) a Kelco cégtől (Lille Skensved, Dánia) szereztük be. A Tayca MT-100TV-t (titándioxidot, alumínium-hidroxidot, sztearinsavat) és a Z-Cote Maxot (cinkoxid, difenil kapril metikont) az Unipextől (St. Ouen l'Aumône, Franciaország) illetve BASF-től (Levallois Perret, Franciaország) szereztük be.

A napvédő anyagok hatékonyságának meghatározása. Egy o/w emulziót készítettünk el laboratóriumban, hozzáadva azon ismert vegyületek koncentrációját, amelyeket a készítmény vegyületeire nézve teszteltünk. A készítménynek egy részletes leírását meg lehet találni az előző számban.¹³ Az **1** és **2** vegyületek különféle koncentrációját építettük be egyedül a TiO₂ vagy ZnO társításával a krémekbe. Majd miután a termék 30 mg-ját pontosan kimértük, egy cot bevonatú ujjal rákentük (25 cm²) egy PMMA lap teljes felületére (25 cm²) (Helioscience, Creil, Franciaország). Miután felkentük, 15 mg rajta maradt a cot ujjon. A krémek PFUVA értékeit aztán in vitro mértük. Három lemezt preparáltunk minden egyes termék számára tesztelés céljára, és minden egyes lemezen kilenc mérést végeztünk el. Átviteli méréseket 290 és 400 nm között, valamint 320 és 400 nm között SPF-re és PF-UVA-ra végeztünk el egy spektrofotométer segítségével, amely el volt látva egy integrációs gömbbel (UV átviteli analizáló UV1000S Labsphere, North Sutton, NH). A számításokat a következő egyenleteknek megfelelően végeztük el:

amelyben az $E\lambda$ a földi napfény spektrális sugárzása λ -nál. Az $I\lambda$ az eritemális tevékenység spektruma λ -nál, a $T\lambda$ pedig a mintaanyag spektrális átvitele λ -nál.^{14,15} A lemezeket két órán át sugározták be napszimulátor készülékkel (Suntest CPS; Atlas, Moussy le Neuf, Franciaország), amely el volt látva xenon ívlámpával (1500 W), valamint speciális üvegszűrőkkel, amelyek korlátozták a fény átvitelét 290 nm fölött. A fényforrás kibocsátását fenntartottuk 650 W/m²-en, ami egybeesik az általános napspektrum kisugárzással.¹⁶ A besugárzás alatt és után a krémek SPF és PFUVA adatait in vitro mértük meg.

1. ábra Az **1** és **2** vegyületek hatása az SPF-re és a PF-UVA-ra.

1. táblázat Az **1** és **2** fénystabilitása

1 vegyület (átlagosan) (\pm SD), **2** vegyület (átlagosan) (\pm SD)

SPF(t_0) 4.52 (0.38 4.72 (0.20

SPF (t_{1202}) 5.64 (0.46 4.42 (0.13

PF-UVA (t_0) 5.77 (0.55 4.92 (0.20

PF-UVA ($t_{120'}$) 6.15 (0.58 4.59 (0.13

