

Flavonoidlerin Penetrasyon Deęiřtiricileri Olarak Kullanılan Kozmetik Hidrofilik İçerikler

COMMON COSMETIC HYDROPHILIC INGREDIENTS AS PENETRATION MODIFIERS OF FLAVONOIDS

J.ARCT, A. OBORSKA, M. MOJSKI, A. BINKOWSKA ve B. ŐWIDZIKOWSKA

Varşova Teknik Őniversitesi, Kimya Fakóltesi, Noakowskiego 3,00-664, Varşova, Polonya

© Arct J, Oborska A, Mojski M, Binkowska A and Őwidzikowska B.. Common Cosmetic Hydrophilic Ingredients As Penetration Modifiers of Flavonoids. *International Journal of Cosmetic Science* 2002; 24:357-366.

Özet

Günümüzde flavonoidler, pek çok kozmetik ürünün esas olarak da bitki ekstresi kökenli olanların içinde bulunmaktadır. Bu maddelerin çok talep görmesinin ve bu ilginin giderek artmasının temel sebebi bunların faydalı biyokimyasal etkinliklerinde yatmaktadır. Flavonoidlerin etkinliklerini etkileyen temel faktör, cildi penetre etme özellikleridir. Çalışmalar, üzüm yaprağı ekstresinden elde edilen flavonoidlerin quercetin, rutin ve catechin türü flavonoidler gibi aköz solüsyonlardan lipofilik membran modeline doğru göç edebildiğini göstermiştir. Yaygın kullanılan hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin flavonoidlerin geçiş özellikleri üzerindeki etkileri kontrol edilmiştir. Test edilen flavonoidlerin octanol-su geçiş sistemindeki bölüm katsayısı değerlendirildi. Özel flavonoidlerin log P si ile geçiş katsayıları arasındaki bağlantılar grafikleştirildi. Hidrofilik maddelerin flavonoidlerin geçiş profili üzerine etki mekanizmasını değerlendirmek üzere bu bileşiklerin suda çözünürlüğü araştırıldı. Çalışmalar gösterdi ki, hidrofilik katkı maddelerinin varlığı, flavonoidlerin taşıyıcıları içindeki aktivitelerini azaltarak flavonoid çözünürlüğünü arttırmaktadır. Böyle bir durumda geçişi yöneten kuvvetler azalır ve geçiş katsayısının azaldığı görülebilir.

Anahtar Kelimeler: Difüzyon hücresi, Flavonoidler, Hidrofilik maddeler, Deri geçirgenliği

T Klin Kozmetoloji 2003, 4:25-35

Summary

Nowadays, flavonoids are present in many cosmetic formulations, mainly in the form of plant extracts. The main reason of still increasing popularity of these substances is their beneficial biochemical activity. The main factor affecting activity of flavonoids in the skin is their skin penetration ability. The studies have evidenced that flavonoids from grape leaf extract as well as flavonoids like quercetin, rutin and catechin can migrate through the model lipophilic membrane from aqueous solution. The influence of common hydrophilic cosmetic additives on the permeation profile of flavonoids has been checked. The partition coefficients of examined flavonoids in the octanol-water extraction system were determined. Correlations between permeation coefficients and log P of particular flavonoids were plotted. To determine the mechanism of influence of hydrophilic substances on the permeation profile of flavonoids, the solubility of these compounds was investigated. Studies suggest that the presence of hydrophilic additives causes the increase in the flavonoid solubility that decreases the activity of flavonoids in the vehicle. In such a situation, the driving force for the penetration is reduced and the decrease of permeation coefficient can be observed.

Key Words: Diffusion cell, Flavonoids, Hydrophilic substances, Skin permeation

T Klin J Cosmetol 2003, 4:25-35

Flavonoidler bitkisel evrende geniş ölçüde var olan ve doğal biyolojik aktif maddelerin en önemli sınıfını oluşturan bir polifenolik bileşik grubudur. Bu bileşiklerin insan vücudu üzerinde çok faydalı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (1). Flavonoidlerin güçlü antioksidan, serbest radikal tutucu ve metal

bağlayıcı aktivitelerinin olduğu geniş bir biçimde araştırılmış ve yayınlanmıştır (2,4). Literatürde, flavonoidlerin antiinflamatuvar, antimutajenik ve antiallerjik özellikleri de ortaya konmuştur (5,7). Güçlü antioksidan etkinlikleri, flavonoidlere lipid peroksidasyon işleminde etki gösterme imkanı

verir. Flavonoidler bazı enzimlerin etkinliklerini etkileyebilen bileşikler olarak da tanınmışlardır (8,9). Dahası, literatürde mikrosirkülasyon üzerine faydalı etkileri de bildirilmiştir (10).

Öyle görünmektedir ki, flavonoidler kozmetik bakış açısından da çok kıymetlidir. İnsanın en önemli dış yapı elemanı olan cilt, bu bileşiklerden çeşitli aşamalarda etkilenebilmektedir. Flavonoidler, stratum korneumda serbest radikal tutucu olarak rol almakta, epidermiste bazı enzimlerin aktivitesini etkilemekte ve dermiste mikrosirkülasyonda etkileri olmaktadır. Flavonoid molekülünün etki göstermesindeki tek problem stratum korneumdaki cilt bariyerini aşması gerektirir (11,12).

Cilt geçirgenliği ve flavonoidler

Flavonoidlerin pek çok özelliği geniş bir biçimde araştırılmış olsa da bu bileşiklerin perkütan emilimleri hakkındaki bilgi yeterli değildir.

1998 de Saija ve Tomaino, Franz difüzyon hücrelerine monte edilen naringenin ve hesperitin kesilmiş insan cildinden geçişini araştırdılar (13). Hem naringenin hem de hesperetin boynuzsu tabakadan geçebildiler ve D-limonene ve lecitin ile cildin ilk tedavisi bu maddelerin geçişi ile artış gösterdi. Bu deneylerde, flavonoidler cilde aseton solüsyonu şeklinde uygulandılar.

Bonina ve Lanza naringenin, hesperetin ve quercetin stratum korneumdan da geçebildiğini farkettiler (14). Bu deneyler esnasında, araştırmacılar insan cildini ve Franz difüzyon hücrelerini kullandılar. Flavonoidler acetonda çözüldüler ve etanol-su solüsyonu içeren bölmeye alındılar (1:1, v/v). Bu alandaki diğer çalışmalar flavonoidlerin bir polivinil alkol (PVA) membrandan geçişi üzerine olmuştur (15). Bir ham ilaç olan "Wogon"dan ekstrakte edilen baicalin, baicalein ve flavone'un PVA membranını kullanarak birbirlerinden ayrılabilirdiği ispatlanmıştır.

Sarı papatya flavonlarının in vivo cilt geçişleri Merfort ve ark. tarafından çalışılmıştır (16). Üç flavonoid- apigenin, luteolin ve apigenin 7-O-alfa-glucoside dikkate alınmıştır. Yedi saat civarında

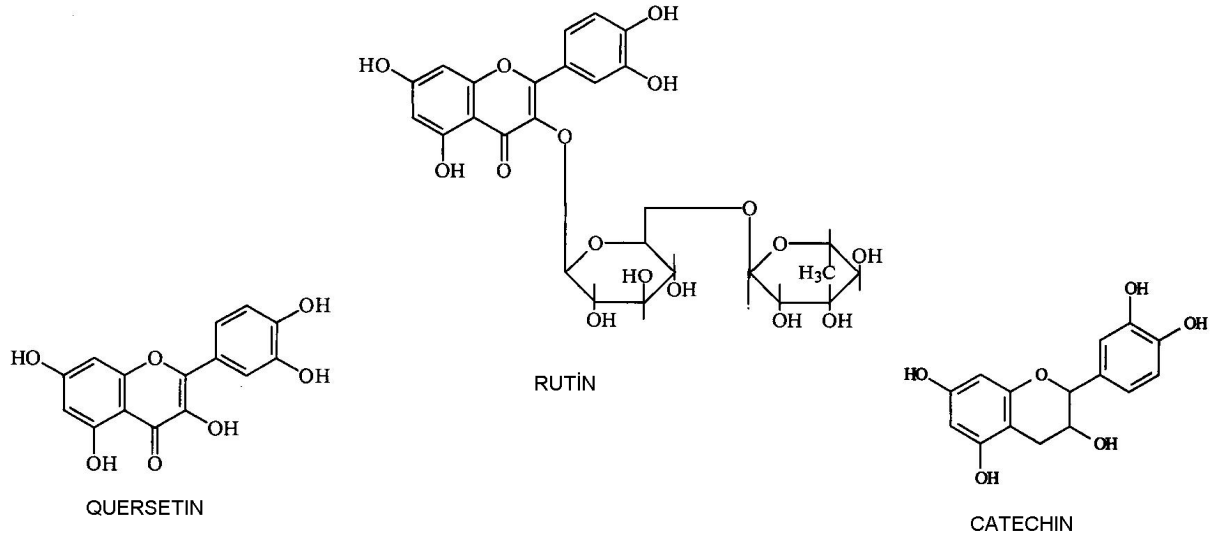
kolun üst bölümüne yapıştırılan cam uygulama bölgesine doldurulan satüre aköz alkol solüsyonundaki flavonoid konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir. Bu deneylere dayanarak yazarlar, flavonoidlerin daha derin cilt katmanlarına penetre olduğu kanısına varmışlardır.

Jung ve Steche, hydroxyethylrutuside'lerin – 5,7,3'-trihydroxyethylrutuside, 7,4'dihydroxyethylrutuside ve 5,7,3',4'-tetrahydroxyethylrutuside-perkütan geçişini çalışmışlardır (17). Flavonoidler tüsüz albino fareler ve gönüllü insanların cildine topikal %2 jel olarak uygulanmışlardır. Gerekli süre geçtikten sonra cilt, bir küçük bıçak yardımıyla kazınmıştır. Deneyler test edilen tüm hydroxyethylrutuside'lerin fare ve insan cildini geçtiğini göstermiştir.

Flavonoidlerin cildi geçiş alanlarını ortaya koyan literatürler oldukça kısıtlıdır. Sıklıkla bir çözücü olarak aseton ve alkol kullanılarak yapılan çalışmalar, flavonoidlerin düşük aköz çözünürlüğü ile ilgili problemlerinden sakınmak için yeterli değildir fakat membran yapısını ve aynı zamanda geçiş şartlarını da değiştirebilmektedirler.

Bu yayında tanıtılan çalışmalar, literatürde ayrıntıları ile tanımlanan yan-yan difüzyon hücreleri temelinde dayanmaktadır (18). İnvaziv ve problemleri metodlardan sakınmak için lipozomlardan oluşturulan stratum korneum benzeri membran modelini kullandık (19).

Kozmetik açıdan, flavonoidlerin hem yağ hem de su fazından geçmesi önemlidir; bu yayında yer alan çalışmalar su fazı üzerinde yoğunlaşmıştır. Fosfat tamponu (pH=7.4) deneylere sabit bir pH sağlamak için gerekli çözücü olarak kullanılmıştır. Kozmetiklerde yer alan flavonoidlerin karmaşık kimyasal sistemin bir parçası olduğu şeklinde bir açıdan bakıldığında, kozmetik formüllerde sıklıkla bulunan bu bileşiklerin geçiş mekanizması dikkate alınmalıdır. Flavonoidlerin geçiş özellikleri, yaygın kullanılan kozmetik hidrofilik katkı maddelerinin (gliserin, propilen alkol, bütülen alkol, PEG 400 ve PEG 1500 varlığında çalışılmış ve bu maddelerin flavonoidlerin permeabilite profili üzerine etkileri değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Araştırılan flavonoidlerin yapıları.

Üzüm yaprağı ekstresi gibi doğal orijinle birlikte üç farklı flavonoid olan quercetin, rutin ve catechinin karışımı model maddeler olarak seçilmiştir.

Materyal ve Metod

Materyaller

Rutin ve quercetin Sigma Aldrich ve catechin Fluka dan elde edildi. Üzüm yaprağı ekstresi Croda şirketinden alındı. 1,2 propilen glikol, gliserin ve octanol Fluka'dan elde edildi. 1,2 butilen glikol Sigma-Aldrich ten temin edildi. PEG 400 ve PEG 1500 Clariant tarafından sağlandı. Polyester membran Kimya ve Nükleer Teknik Enstitüsünden (Varşova, Polonya) sağlandı. Flavonoid konsantrasyonları spektrofotometre Hitachi 3300 ile değerlendirildi. Manyetik karıştırıcı ES 24, 1000 r.p.m Conbest'ten sağlandı.

Model membranın hazırlanması

Stratum korneum lipidlerine model olacak lipofilik membran, boynuz tabaka lipidlerinden hazırlanarak iki polyester mikrofiltre membranı arasına konan sandviç tarzı lipozomlardan oluşturuldu (yarıçap, 12 mm; por boyutları, 0.4 mikron; kalınlık 12 mikron). Membran 24 saat boyunca oda ısısında kurutuldu, yan-yan difüzyon hücresine

monte edildi ve sonraki 24 saat boyunca fosfat tamponunda (pH=7.4) membranın sabit hidrasyonunu sağlamak üzere bekletildi.

Model membrandan geçiş

Bu deneylerde kullanılan difüzyon hücresi 26 mL volüme sahip yan-yana duran ve aralarına membran monte edilen iki hücreden oluşmaktadır. Membranın etkin difüzyon alanı 1.77 cm² dir.

Membran stabilizasyonundan sonra fosfat tamponunda seçilen flavonoidin 50 mikrometre mL⁻¹'lik solüsyonu, donör hücreye yerleştirildi. Alıcı hücre taze fosfat tamponu ile dolduruldu. Difüzyon hücreleri 1000 r.p.m.'lik manyetik karıştırıcıya yerleştirildi. Örnekler 72. saatte toplandı.

Analitik metodlar

Flavonoid konsantrasyonları spektrofotometrik metodlarla değerlendirildi. (rutin, 365nm'de; quercetin 375 nm'de ve ekstre 275 nm'de). Catechin 420 nm'de değerlendirildi.

Permeabilite katsayısının belirlenmesi

Permeabilite katsayısını hesaplamak üzere, flavonoidlerin kümülatif miktarı, membranı geçen bir bileşiğin kararlı bir durumda zaman ve akıma karşı değerlendirilmesi ile grafikleştirildi (20).

Permeabilite katsayısı (K_p) ve kararlı durum akımı denklem 1 olarak ortaya konabilir:

$$K_p = \frac{J}{C_v} \quad (1)$$

C_v donör solusyondaki (taşıt) deneyin başlangıcındaki sürekli konsantrasyonu, J membranın birim alanından birim zamanda geçen madde miktarını belirtmektedir.

Bölüm katsayısının belirlenmesi

Flavonoidlerin n-octanol-su sistemi ve farklı hidrofilik maddelerin olduğu bir sistemde görece bölüm katsayısı salla-bırak metodu ile belirlendi (21).

İlk adımda n-octanol ve su birbirleri ile doyuruldu ve flavonoid su fazında çözüldü. Octanol ve su fazları birbirlerine eklendi ve 4 saat boyunca sallandı. Sonra her iki faz ayrıldı ve su fazındaki flavonoid konsantrasyonu değerlendirildi. Su ve octanol fazı arasında flavonoidlerin görece bölme katsayısını hesaplamak için denklem 2 kullanıldı:

$$P = \frac{C_o}{C_w} \quad (2)$$

C_o ve C_w , octanol ve su fazı içinde yaklaşık flavonoid konsantrasyonlarını belirtmektedir. Bölme katsayısı (P), $\log P$ 'yi ifade etmektedir.

Hidrofilik maddenin etkisi deney öncesi su fazına bu maddelerin %6'sı eklenerek kontrol edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Flavonoid geçişi üzerine hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin etkisi

Kozmetik formüllerde yer alan flavonoidler daima komplike kimyasal sistemin bir parçası olmuşlardır. Çalışmamızın amacı test edilen flavonoidlerin geçişi esnasında yaygın olarak kullanılan kozmetik katkı maddelerinin hidrofilik karakterinin etkisini değerlendirmektir. Gliserin, 1,2-propilen glikol (PG), 1,2-butilen glikol (BG), PEG 400 ve PEG 1500 hidrofilik bileşikler olarak seçilmişlerdir.

Tablo 1. Üzüm yaprağındaki flavonoidlerin geçiş katsayıları (K_p) üzerine %6 hidrofilik katkı maddelerinin etkileri (6 deneyin ortalaması \pm SD)

Hidrofilik madde	$K_p \times 10^7$ (cm s^{-1})	$\Delta K_p \times 10^7$ (cm s^{-1})
Hiçbiri	1.44 \pm 0.19	-
1,2 propilen glikol	1.14 \pm 0.15	-0.3 \pm 0.19
PEG 400	1.09 \pm 0.14	-0.35 \pm 0.19
1,2 butilen glikol	0.99 \pm 0.13	-0.45 \pm 0.19
PEG 1500	0.46 \pm 0.06	-0.98 \pm 0.19
Gliserin	0.29 \pm 0.04	-1.15 \pm 0.19

Delta K_p hidrofilik madde varlığında ekstredeki flavonoidlerin K_p 'si ile katkı maddeleri olmaksızın ekstredeki K_p arası fark.

Tablo 2. Flavonoidlerin geçiş katsayıları üzerine %6 hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin etkisi (6 deneyin ortalaması \pm SD)

Hidrofilik madde	$K_{pQ} \times 10^6$ (cm s^{-1})	$K_{pC} \times 10^7$ (cm s^{-1})	$K_{pR} \times 10^7$ (cm s^{-1})
Hiçbiri	20.80 \pm 2.02	28.65 \pm 1.00	6.11 \pm 0.37
1,2 propilen glikol	14.98 \pm 1.45	11.65 \pm 0.40	1.73 \pm 0.11
Gliserin	12.38 \pm 1.20	3.53 \pm 0.12	2.40 \pm 0.15
1,2 butilen glikol	19.19 \pm 1.86	16.27 \pm 0.57	3.31 \pm 0.20
PEG 400	14.15 \pm 1.37	2.06 \pm 0.07	1.00 \pm 0.06
PEG 1500	2.42 \pm 0.23	0.69 \pm 0.02	2.58 \pm 0.16

K_{pQ} , K_{pC} ve K_{pR} quercetin catechin ve rutin için geçiş katsayıları.

Araştırmamızın başlangıç deneylerinde üzüm yaprağı ekstresinden elde edilen flavonoidlerin permeabilite yetenekleri araştırıldı. Üzüm yaprağı ekstresi kozmetik formüllerde yaygın olarak bulunan doğal bir bileşiktir. Flavonoidlerin geçiş oranı, geçen maddenin taşıt içindeki konsantrasyonunun kararlı durum akımı oranı olan geçiş katsayısı (K_p) ile ifade edildi. Deneyin sonuçları tablo 1 de sunulmuştur.

Tablo 1'de sunulan sonuçlar üzüm yaprağındaki flavonoidlerin geçiş oranında hidrofilik maddelerin çok etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Tüm vakalarda üzüm yaprağı flavonoidlerinin geçiş katsayısı, sistemde hidrofilik maddeler oldu-

Tablo 3. Delta K_p formunda gösterilen hidrofilik katkı maddelerinin engelleyici etkileri

Flavonoidlere eklenen hidrofilik maddeler	$\Delta K_{pQ} \times 10^6$ (cm s^{-1})	$\Delta K_{pC} \times 10^7$ (cm s^{-1})	$\Delta K_{pR} \times 10^7$ (cm s^{-1})
Sadece flavonoid	-	-	-
1,2 propilen glikol	-5.82 ± 2.02	-17.00 ± 1.00	-4.38 ± 0.37
Gliserin	-8.42 ± 2.02	-25.12 ± 1.00	-3.71 ± 0.37
1,2 butilen glikol	-0.89 ± 2.02	-12.38 ± 1.00	-2.80 ± 0.37
PEG 400	-6.65 ± 2.02	-26.59 ± 1.00	-5.11 ± 0.37
PEG 1500	-18.38 ± 2.02	-27.96 ± 1.00	-3.53 ± 0.37

ğunda, ekstrede sadece tampon solüsyonu varlığına göre daha düşüktür. Gliserin ve PEG 1500 en kuvvetli geçiş engelleyicileri olarak görünmektedir.

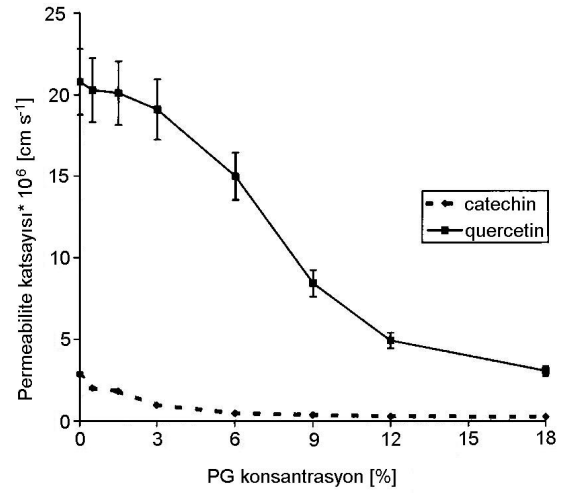
Ekstreden elde edilen ilginç sonuçlar, bizi bu geçiş işlemi saf flavonoidler olan quercetin, rutin ve catechin ile de tekrarlamaya yöneltti (Tablo 2).

Saf flavonoidler için sonuçlar da ekstre için bildirilenler gibi olmuştur: tüm flavonoid maddeleri ile ilgili vakalarda hidrofilik maddelerin eklenmesi geçiş katsayısında azalmaya neden olmuştur. Bu da, tüm test edilen maddelerin varlığında quercetin, catechin ve rutin model membrandan geçişinde yavaşlama anlamına gelmektedir.

Özel hidrofilik katkı maddelerinin engelleyici etkileri ile karşılaştırmak için, delta K_p (hidrofilik madde varlığında flavonoidin K_p si ile katkı maddeleri olmaksızın flavonoid K_p 'si arasındaki fark) tüm deneylerde hesaplanmıştır (Tablo 3).

Tabloda gösterildiği gibi, her flavonoidin permeabilitesi için hidrofilik maddenin etkisi farklıdır. Bu bileşiklerin varlığından en fazla etkilenen madde catechindir. Hidrofilik maddelerin en az etkisi rutin üzerinde görülmüştür.

Araştırılan tüm flavonoidler için en etkili geçiş inhibitörü PEG 400 ve PEG 1500'dür. Quercetin ve catechinin kullanıldığı vakalarda en yüksek engelleyici etki PEG 1500; rutin'li vakalarda PEG 400 tarafından gösterilmiştir. Glikol ve gliserin de olayı yavaşlatmaktadır fakat bu daha zayıf bir etki-



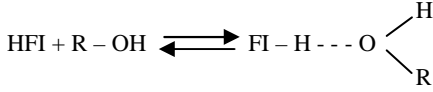
Şekil 2. Quercetin ve catechin permeabilitesi üzerine propilen glikol (PG) konsantrasyonunun etkisi (6 deneyin ortalaması ± SD).

dir.(catechinin geçiş katsayısı üzerine gliserinin oldukça yüksek etkisi dışında) Hidrofilik maddelerin en önemli etkisi catechin üzerinde görülebilmektedir.

Hidrofilik maddeler kozmetiklere farklı konsantrasyonlarda eklenebilir. Kozmetik ürünün cilde uygulanmasından sonra su buharlaşır ve üründeki hidrofilik maddenin konsantrasyonu değişir.

Araştırmamızın ileri bir bölümü de seçilmiş iki flavonoid olan quercetin ve catechinin penetrasyon yetenekleri üzerine hidrofilik maddelerin konsantrasyonlarının etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır (Şekil 2). Kozmetik ürünlerin büyük bir kısmında bulunan propilen alkol, hidrofilik madde olarak kullanılmıştır.

Şekil 2 propilen alkolün artan konsantrasyonlarında her iki madde için de azalan geçiş katsayılarını göstermektedir. İnhibitör aktivite, %3'ten fazla propilen alkol içeren konsantrasyonlarda daha da artmaktadır. Catechin ve quercetin migrasyon olayı üzerine bu hidrofilik maddenin düşük konsantrasyonunun etkisi daha az önemli gibi görünmektedir. %3-18 aralığında eğrinin eğimi, quercetin için hızla azalan bir karakter çizerken catechin için daha düz bir karakter çizmektedir.



Şekil 3. Flavonoid molekülü ve hidrofilik made arasındaki hidrojen köprü.

Flavonoidlerin octanol-su bölümü üzerine hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin etkisi ve çözünürlük

Araştırmanın başlangıcında alınan sonuçlar, görülen etkileri açıklamak üzere çalışmaya devam etmemizi sağladı. Donör solüsyondan membrana geçen flavonoidlerin bölüm katsayısı açısından bakıldığında böyle bir işlemde belirleyici rol oynayan octanol-su ekstraksiyon sisteminin bölüm katsayısı araştırıldı.

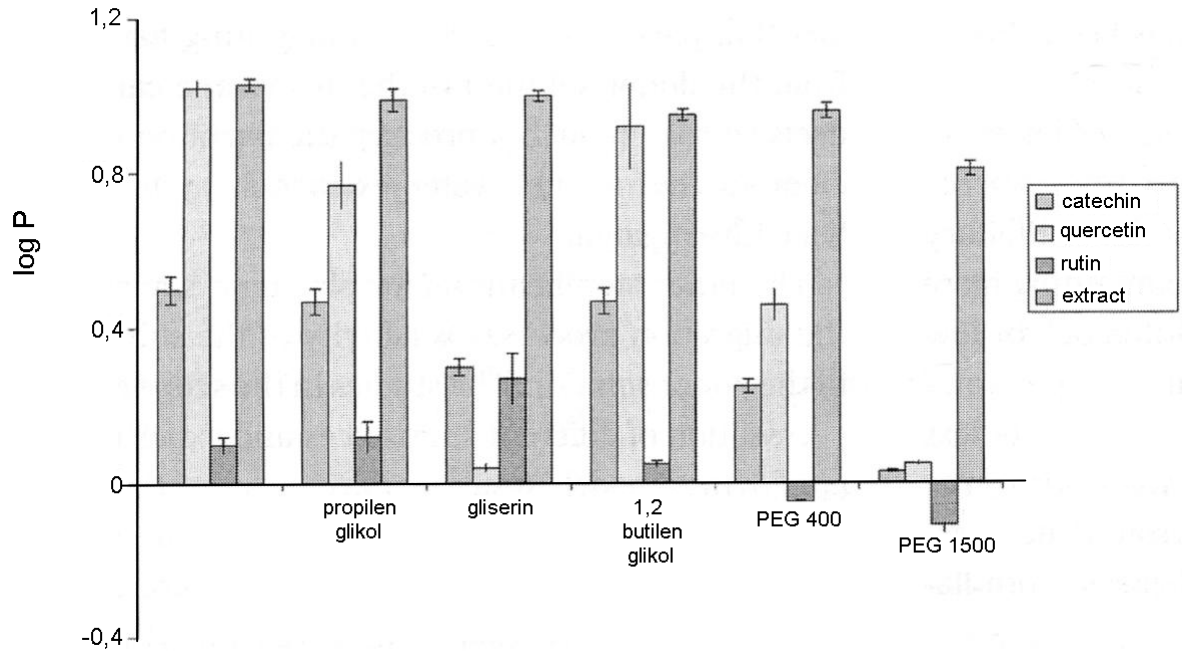
Geçiş olayında anahtar rol oynayan diğer önemli faktörlerden biri de donör solüsyonundaki maddenin etkinliğidir. Farklı maddelerin cilt geçirgenliği ile ilgili çalışmalar ve model sistemler kullanan deneyler göstermiştir ki, çözücü ve penetre eden bileşikler arası afinite derecesi, membrandan

geçişten sorumlu en önemli faktörlerden biridir (20).

Genelde bilindiği şekliyle kararlı-durum akımı (J) denklem 3 olarak adlandırılabilir.

$$J = \frac{D \times \alpha}{1 \times \gamma_s} \quad (3)$$

D, membranın difüzyon katsayısı; I membran kalınlığı, Ys membrandaki geçişin etkinlik katsayısı ve a taşıt içindeki geçen maddenin aktivitesidir. İnteraktif olmayan çözücülerde, a dışındaki tüm faktörler sabit kabul edilebilir. Bu denklemin basitleştirilmesi ile kararlı durum akımının, yalnızca taşıt içindeki maddenin aktivitesinin, ki bu da kabaca taşıtın konsantrasyonunun maddenin çözünürlüğüne oranı olarak ifade edilebilir, bağlı olduğu fikrine ulaşılabilir. Yukarıda anlatılan fonksiyonların analizi çok önemli bir sonuç bildirmektedir; doyma noktasının altında konsantrasyon azalması geçiş işleminde etkin güçleri azaltmaktadır. (20) Bu işlemde geçiş oranını azalttığı gösterilen ikinci bir faktör de hidrofilik madde ile flavonoid molekül arasında oluşabilen hidrojen köprüleridir (Şekil 3).



Şekil 4. Flavonoidlerin görece octanol-su bölüm katsayısı üzerine kozmetik hidrofilik katkı maddelerinin etkisi (3 deneyin ortalaması ± SD).

Solüsyonda gliserin ve glikollerin varlığı intermoleküler H köprülerinin oluşumuna yol açar ve bu da membranı intermoleküler bağlantılar yapmış olanlara göre daha kolay geçebilen serbest bağlanmamış flavonoid moleküllerinin (HFI) azalması ile sonuçlanır.

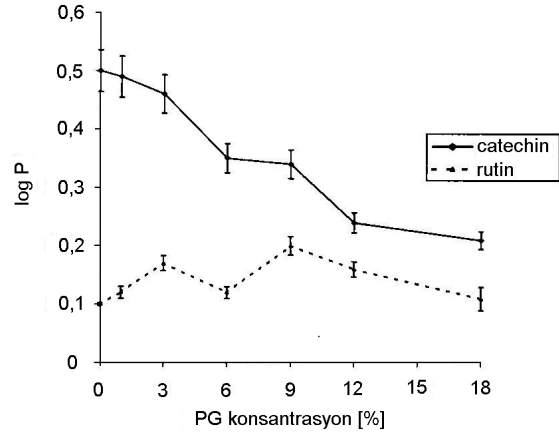
Böylece, flavonoidlerin geçiş oranı üzerine hidrofilik maddelerin önleyici etkilerini açıklayan bir görüşe sahip olarak, hidrofilik katkı maddelerinin fosfat tamponundaki flavonoid çözünürlüğüne etkilerini belirlemeyi amaçlayan daha ileri çalışmalara yöneldik.

Flavonoidlerin octanol-su ekstraksiyon sistemindeki bölüm katsayıları üzerine hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin etkisi

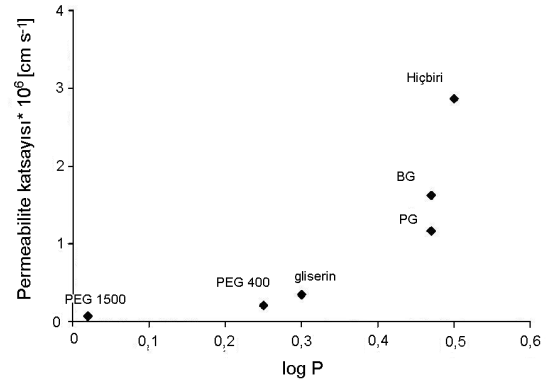
Flavonoidlerin geçişi üzerine hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin önemli etkileri olduğunu gösteren bu çalışmanın sonuçları, bizi bu sistemde hidrofilik maddelerin varlığı ile octanol-su sistemindeki flavonoidlerin davranışları arasındaki ilişkiyi değerlendirmeye yöneltti. Böyle bir fonksiyonu belirlemek için quercetin, catechin, rutin ve ekstre flavonoidlerinin bölüm katsayıları hidrofilik katkı maddesi varlığında (%6) değerlendirildi (Şekil 4).

Çalışma gösterdi ki, sistemde hidrofilik maddelerin varlığı test edilen flavonoidlerin octanol-su bölüm katsayısını değiştirmektedir. En çok etkilenen madde catechin ve quercetin gibi görünmektedir ve tüm deneylerde eğilimin benzer olduğu dikkati çekmiştir (rutinli vakalarda gliserin için olanın dışında) hidrofilik maddenin sisteme eklenmesi bölüm katsayısında azalmaya yol açmıştır. Farklı maddelerin karışımı olan üzüm yaprağı ekstresinin kullanıldığı ve ek olarak hidrofilik bileşiklerin bulunduğu vakalarda çok küçük bir etki izlenmiştir.

Bu araştırmanın sonraki adımı seçilen flavonoidlerin (catechin ve rutin) bölüm katsayıları ile hidrofilik katkı madde konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlamıştır. Hidrofilik bileşik olarak propilen glikol seçilmiştir (Şekil 5).



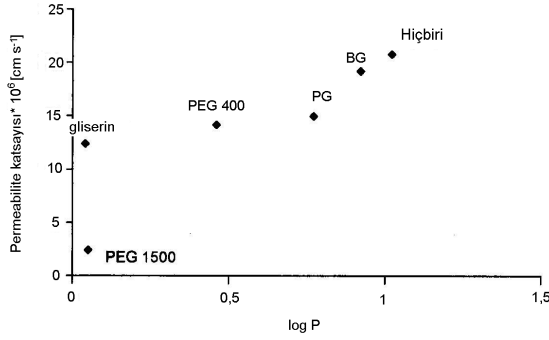
Şekil 5. Flavonoidlerin görece octanol-su bölüm katsayısı üzerine propilen glikol (PG) konsantrasyonunun etkisi (3 deneyin ortalaması ± SD).



Şekil 6. Çeşitli hidrofilik maddelerin, onların octanol-su bölme katsayısı gibi bir fonksiyonu varlığında catechinin geçiş katsayıları (PG; 1,2 propilen glikol; BG; 1,2 butilen glikol).

Propilen glikol konsantrasyonunda en düşük etki rutin için görülmüştür. Bu maddenin bölüm katsayısı propilen alkolün artan konsantrasyonlarında hafifçe artmıştır. Zıt sonuçlar eğrinin gittikçe azaldığı catechin için görülmüştür.

Tüm flavonoidler için elde edilen deneysel verilerin analizi, geçiş katsayıları arasındaki bağlantıları bulmaya, maddenin geçiş yeteneğini ve octanol-su bölüm katsayısını değerlendirmeye olanak vermiştir. Catechin için bağlantılar Şekil 6 da gösterilmiştir.



Şekil 7. Çeşitli hidrofilik maddelerin, onların octanol-su bölme katsayısı gibi bir fonksiyonu varlığında quercetin'in geçiş katsayıları.

Model membranı geçen catechin'in geçiş yeteneği ile çeşitli hidrofilik katkı maddeleri içeren sistemlerin bölüm katsayıları arasındaki ilişki göstermiştir ki catechin'in en hızlı geçiş gösterdiği sistemler yüksek log P değeri olanlardır. Genel olarak, catechin'in bu sistemlerdeki geçiş katsayıları, göreceli bölüm katsayılarındaki artışla paralel olarak arttığını söyleyebiliriz. Şu dikkate değerdir ki, maddenin geçiş yeteneği literatürde genişçe yer aldığı gibi sadece belli bir log P değerine kadar artış gösterir (22).

Quercetin için geçiş katsayıları Şekil 7'de belirtilmiştir. Şekil 7'nin analizi catechin için sunulan bulguları içermektedir. Quercetin'in en iyi geçiş özellikleri maddeye karşı yüksek bölüm katsayısı gösteren sistemlerde gözlenmiştir. Farklı hidrofilik maddeler içeren özel sistemlerin her iki madde için de aşağı yukarı aynı olduğuna dikkat edilmelidir: sadece gliserin ve PEG 400'ün sırası değiştirilmiştir. Bu tür bir doğru orantı rutin için bulunamamıştır.

Bu çalışma esnasında araştırılan bir diğer faktör de fosfat tamponunda özel flavonoidlerin çözünürlüğü üzerine hidrofilik maddelerin etkisidir. (pH=7.4)

Fosfat tamponunda flavonoidlerin çözünürlüğü üzerine hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin etkisi (pH=7.4)

Taşıt içindeki flavonoid aktivitesi üzerine hidrofilik maddelerin etkisini değerlendirmek için

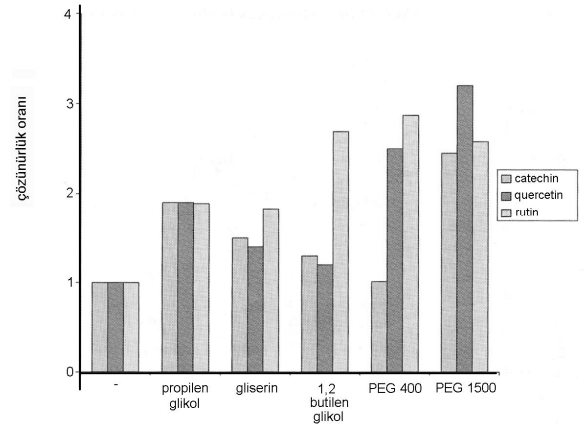
bu maddelerin varlığında flavonoidlerin çözünürlüğü ölçülmüştür. %6 hidrofilik madde içeren (donör hücredeki gibi) fosfat tamponundaki (pH=7.4) flavonoid çözünürlüğünün fosfat tamponundaki flavonoid çözünürlüğüne oranı çözünürlük oranı (SR) olarak ortaya konmuştur.

SR=Hidrofilik madde içeren fosfat tamponunda flavonoid çözünürlüğü

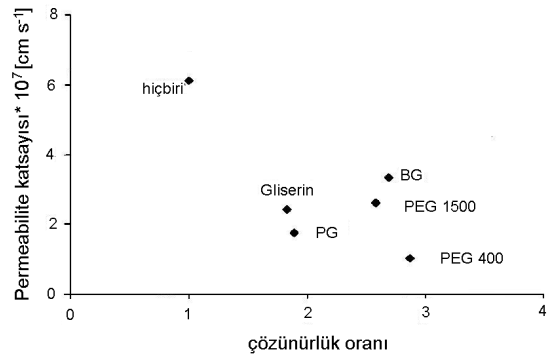
Fosfat tamponundaki flavonoid çözünürlüğü:

Bu deneyin sonuçları Şekil 8 ile bağlantılı olarak tarif edilebilir.

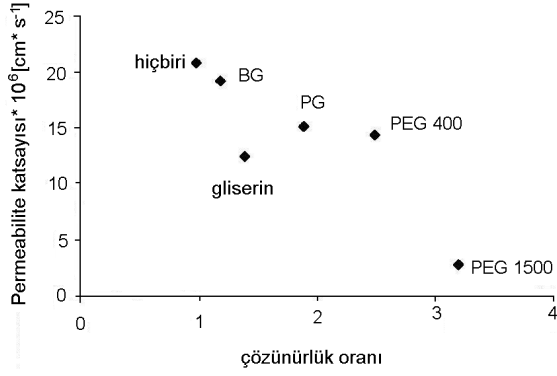
Flavonoid çözünürlüğü ile ilgili çalışmalar beklentilerimizi desteklemiştir: tüm vakalarda sisteme hidrofilik bileşik eklenmesi flavonoid çözünürlüğünü arttırmıştır. Çözünürlükteki en yüksek



Şekil 8. Flavonoid çözünürlüğü üzerine hidrofilik maddelerin etkisi.



Şekil 9. Çeşitli hidrofilik katkı maddelerinin varlığında rutin'in geçiş katsayıları.



Şekil 10. Çeşitli hidrofilik katkı maddelerinin varlığında çözünürlük oranı fonksiyonunda quercetin'in geçiş katsayıları.

artış, flavonoidlerin lipofilik membrandan geçişi için en etkili inhibitör olan PEG 1500 içeren sistemlerde gözlenebilmiştir.

Özel flavonoidlerin farklı hidrofilik katkı maddeleri varlığında geçiş yeteneklerini analiz edersek permeabilite katsayıları ve çözünürlük oranı arasında doğru orantı rutin için bulunmuştur (Şekil 9). Şekil 9'da sunulan ilişki rutin için özel sistemlerdeki çözünürlük oranı ve böyle bir sistemde penetrasyon yeteneği arasındaki doğru orantıyı göstermektedir. Geçiş katsayılarının değeri çözünürlük oranının artması ile azalmaktadır. Çok benzer bir bağlantı quercetin için de bulunabilir (Şekil 10).

Quercetin'in geçiş yeteneği benzer bir eğilim gösterir: çözünürlük oranının artan değerlerine karşı geçiş katsayılarının azaldığı gözlenebilir. Tek istisna gliserin içeren sistemlerde görülmektedir. Catechin'in kullanıldığı vakalarda genel kuralın geçerli olduğu dikkate değerdir: tüm hidrofilik katkı maddeleri catechin'in çözünürlüğünde artışa yol açar ve bu da geçiş katsayılarında azalmayla sonuçlanır; fakat böyle bir doğru orantı çizilememiştir.

Test edilen flavonoidlerin geçiş yetenekleri ile taşıt içindeki çözünürlükleri arasındaki ilişkiye dair çalışmalar göstermiştir ki, taşıt içindeki geçecek

maddenin aktivitesi işlemdeki en önemli faktörlerden biridir. Taşıt sistemine hidrofilik maddenin eklenmesi özel flavonoidlerin çözünürlüğünde artışa neden olur ve bu da taşıt içindeki kalıcı etkinliği azaltır. Doyma seviyesinin altındaki konsantrasyonda azalma olması geçiş işlemi için gerekli güçleri azaltır ve flavonoidlerin geçiş oranları azalır.

Sonuçlar

Bu yayında yer alan araştırma, test edilen saf flavonoidlerin ve doğal karışımda bulunan flavonoid formlarının stratum korneum benzeri lipofilik membran modelinden geçişini araştırmıştır. Flavonoidlerin ciltten geçişinde hidrofilik kozmetik katkı maddelerinin etkisi üzerine çalışmalar bu işlem üzerine önleyici etkilerini kanıtlamıştır. Çalışılan tüm flavonoidlerin olduğu vakalarda octanol-su ekstraksiyon sistemine hidrofilik maddelerin eklenmesi görece bölüm katsayı değerinin azalması ile sonuçlanır. Bu faktörler arasında çizilen bağlantı göstermektedir ki, test edilen flavonoidlerin geçiş katsayıları bölüm katsayısının artan değerleri ile artmaktadır. İleri değerlendirmeler, flavonoidlerin geçiş oranlarında propilen glikol konsantrasyonlarının dikkate değer etkisi olduğunu düşündürmektedir. Catechin ve quercetin için çok doğru bir oranı gözlenmiştir: bu flavonoidlerin geçiş katsayıları propilen glikolün artan konsantrasyonları ile azalma göstermektedir. Test edilen hemen tüm vakalarda (rutinli vakalarda gliserol dışında) octanol-su sisteminde hidrofilik maddelerin varlığı bölüm katsayısında azalma ile sonuçlanır. Catechin için çizilen bölüm katsayısı ve geçiş arası ilişki göstermektedir ki bu flavonoidin geçiş katsayısı, octanol-su sisteminde hidrofilik katkı maddelerinin varlığında artan bölüm katsayısı ile paralel olarak artmaktadır. Çok benzer bir bağlantı quercetin için de bulunmuştur.

Hidrofilik madde varlığında flavonoidlerin çözünürlüğüne dair araştırmalar kanıtlamıştır ki, sisteme hidrofilik maddenin eklendiği tüm vakalarda flavonoid çözünürlüğü artmıştır. Tarafımızdan önerilen olası hipotez şudur ki, flavonoidlerin geçi-

şi olayına hidrofilik maddelerin etkisi bu maddelerin flavonoidlerin çözünürlüğü üzerindeki etkilerine ve octanol-su bölüm katsayılarına dayanmaktadır.

Membrandan geçişi etkileyen faktörler hidrofilik maddelerin membran yapıları üzerindeki etkileri ile olduğu kadar, çözücü-geçen madde afinitesiyle de bağlantılıdır. Deneysel durumlarda membran yapıları üzerine hidrofilik maddelerin etkisinin, bunların varlığında geçen madde-çözücü afinitesindeki değişikliklere göre göreceli olarak daha az olduğunu sanıyoruz. Yayında belirtildiği gibi hidrofilik maddelerin varlığında tüm flavonoidlerin çözünürlüğündeki artış çözücüdeki geçen madde aktivitesini azaltır ve bu da geçiş işlemindeki kuvvetleri önemli ölçüde azaltır.

Günümüzde kozmetik formülasyonlara flavonoidlerin eklenmesi oldukça yaygındır. Bu maddelerin cilt üzerindeki çok faydalı etkilerinin kesin olarak cildi geçme yeteneklerine bağlı olduğu açıktır. Bizim çalışmamızın sonuçları gösteriyor ki flavonoidler stratum corneum benzeri membran modelini geçer ve bu doğal yapıdaki maddelerin aköz sistemden geçişi hidrofilik katkı maddelerinin varlığından etkilenebilir. Bu sonuçlar gösteriyor ki kozmetik formüllerdeki hidrofilik katkı maddelerinin varlığı böyle bir üründe flavonoidlerin geçiş profilini değiştirir.

Bu yayında belirtilen etkiler, flavonoid içeren kozmetiklerin ayrıntısı üzerine yeni bir ışık tutmuştur. Flavonoidlerin geçiş yetenekleri üzerine hidrofilik katkı maddeleri içeren formüllerde, hidrofilik maddeler ve konsantrasyonları çok dikkatli bir biçimde seçilmelidirler. Bu yayında belirtilen sonuçlar flavonoidlerin cilt geçişi alanındaki bilgileri genişletmiştir, fakat konu hala kozmetik sistemleri içeren araştırmalara ihtiyaç duymaktadır ve bu da bizim ileri araştırmalarımızın kaynağını oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Carlo G. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 1999; 4:337-53.
2. Saija A. Flavonoids as antioxidant agents. *Free Radic Biol Med* 1995; 19:481-6.
3. Asgary S, Naderi G, Sarrafzadegan N, et al. Anti-oxidant effect of flavonoids. *Pharm Acta Helv* 1999; 8:223-6.
4. Saskia A. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem Pharmacol* 1998; 56:935-43.
5. Hollman P, et al. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chem* 1996; 57:43-6.
6. Bohm B. *Introduction to Flavonoids*. Harwood Academic Publishers, London, 1998.
7. Middleton E and Kandaswami C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochem Pharmacol* 1992; 43:1167-79.
8. Formica J. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* 1995; 12:1061-80.
9. Guohua C. Antioxidant and pro-oxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med* 1997; 22:749-60.
10. Gabor M. Pharmacological effect of flavonoids on blood vessels. *Angiologica* 1972; 9:355-74.
11. Arct J, Jarnicka A and Mojski M. Biological activity of selected flavonoids in the context of their skin penetration ability. *Eurocosmetics* 2000; 5:29-32.
12. Jarnicka A, Arct J and Mojski M. Cosmetic application of flavonoids – practical aspects. In: *Proceedings of CHI Conference, Warsaw, 2000*.
13. Saija A, Tomaino A and Trombetta D. Influence of different penetration enhancers on in vitro skin permeation and in vivo photoprotective effect of flavonoids. *Int J Pharm* 1998; 175:85-94.
14. Bonina F and Lanza M. Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *Int J Pharm* 1996; 145:87-94.
15. Yoshizuka K, Ohta H and Inoue K. Selective separation of flavonoids with a polyvinyl alcohol membrane. *J Membr Sci* 1996; 118:41-8.
16. Merfort I, Heilmann J and Leweke U. In vivo skin penetration studies of camomile flavones. *Pharmazie* 1994; 49:509-11.
17. Jung E and Steche J. Percutaneous penetration of hydroxyethylrutinosides. *Euro J Clin Pharmacol* 1972; 4:182-4.
18. Matsuzaki K and Imaoka T. Development of a model membrane system using stratum corneum lipids for estimation of drug skin permeability. *Chem Pharm Bull* 1993; 41:575-9.
19. Abraham W and Downing D. Preparation of model membranes for skin permeability studies using stratum corneum lipids. *J Invest Dermatol* 1989; 93:809-13.
20. Schaefer H and Redelmeier T. *Skin Barrier*. Karger AG, Basel, 1996.

21. Finizio A and Vighi M. Determination of n-octanol/water partition coefficient of pesticide: critical review and comparison methods. *Chemosphere* 1997; 34:131-61.
22. Arct J, Gronwald M and Kasiura K. Possibilities for the prediction of an active substance penetration through epidermis. *IFSCC Magazine* 2001; 4:179-83.

**Orijinal İngilizce şeklinde Türkiye Klinikleri tarafından tercüme edilmiştir. Türkçeye tercümesinin doğruluğundan Türkiye Klinikleri sorumludur, Blackwell Science Limited veya Society of Cosmetic Chemists sorumluluk kabul etmemektedir.*

Translated by Türkiye Klinikleri Publishing House from the original English language version. Responsibility for the accuracy of the translation in the Turkish language rests solely with Türkiye Klinikleri Publishing House and is not the responsibility of Blackwell Science Limited or the Society of Cosmetic Chemists.