

Účinky a využití alfa-hydroxykyselin v kosmetice

Natálie Podešvová

Bakalářská práce
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Natalie Podešvová**
Osobní číslo: **T17712**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Účinky a využití alfa-hydroxykyselin v kosmetice**

Zásady pro vypracování

Vypracujte literární studii na zadané téma. Charakterizujte jednotlivé alfa-hydroxykyseliny, popište jejich vlastnosti a mechanismus působení na pokožku, oblasti uplatnění v kosmetice a bezpečnost použití.

Forma zpracování bakalářské práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

Vědecké články z databází *Web of Science*, *Scopus* a další; databáze elektronických knih (např. *Knovel*).
DRAELOS, Z., D. *Cosmetic Dermatology Products and Procedures*, Wiley-Blackell, UK, 2010.
Alam M., Pongprutthipan M. *Body Rejuvenation*. USA: Springer, 2010.
Tang, S. Ch., Yang, J. H. Dual effects of Alpha-Hydroxy Acids on the Skin. *Molecules* 2018, 23, 863.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá charakteristikou a vlastnostmi AHA – *Glycolic Acid*, *Lactic Acid*, *Mandelic Acid*, *Malic Acid*, *Tartaric Acid* a *Citric Acid*. Detailně popisuje stěžejní účinky AHA na pokožku – exfoliaci a hydrataci. Pojednává o oblastech uplatnění AHA v kosmetice v souvislosti s popsányými mechanismy působení. Vysvětluje problematiku bezpečnosti, jak v přípravcích denního užití, tak v přípravcích určených kosmetickým salónům.

Klíčová slova: AHA, chemický peeling, hydratace, aktinické stárnutí, antioxidant, regulátor pH, bezpečnost

ABSTRACT

The bachelor thesis is focused on characteristics and properties of AHA – *Glycolic Acid*, *Lactic Acid*, *Mandelic Acid*, *Malic Acid*, *Tartaric Acid*, and *Citric Acid*. Attention is paid to the crucial effects of AHA on the skin, especially exfoliation and moisturization. The thesis deals with the areas of application of AHA in cosmetics in connection with the described mechanisms of action. The safety and use of AHA in common life and in cosmetic salon were explained.

Keywords: AHA, chemical peeling, moisturization, photoaging, antioxidant, pH adjuster, safety

Poděkování

Mé poděkování patří především vedoucí mé práce Ing. Janě Pavlačkové, Ph.D. za vedení práce, cenné připomínky a rady. Velké díky patří Bc. Barboře Podešvové, mojí sestře, za pomoc při kreslení schémat a v neposlední řadě chci poděkovat také svým rodičům za podporu během celé doby studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Natálie Podešvová

OBSAH

ÚVOD	8
1.1 HISTORIE PROBLEMATIKY AHA.....	8
2 HYDROXYKyselINY	9
2.1 KLASIFIKACE HYDROXYKyselIN	9
3 ALFA-HYDROXYKyselINY	11
3.1 ALKYLOVÉ ALFA-HYDROXYKyselINY	12
3.1.1 Kyselina glykolová.....	12
3.1.2 Kyselina mléčná	13
3.2 ARYLALKYLOVÉ ALFA-HYDROXYKyselINY	13
3.2.1 Kyselina mandlová.....	13
3.3 POLYKARBOXYLOVÉ ALFA-HYDROXYKyselINY	14
3.3.1 Kyselina jablečná	15
3.3.2 Kyselina vinná.....	15
3.3.3 Kyselina citronová	15
4 ÚČINNOST AHA	16
4.1 BIOLOGICKÁ ODPOVĚĎ KOŽNÍCH BUNĚK PO APLIKACI AHA	16
4.1.1 Chemický peeling.....	18
4.2 AHA JAKO HUMEKTANTY	20
4.2.1 Problematika formulování emulzí s AHA.....	21
4.3 AHA A UV ZÁŘENÍ	22
4.3.1 Využití fotoprotektivních účinků AHA	27
4.3.2 Anti-aging efekt	28
4.4 ANTIOXIDAČNÍ ÚČINKY AHA.....	29
4.5 AHA JAKO REGULÁTORY PH.....	31
4.6 ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINKY KyselINY MANDLOVÉ.....	31
5 BEZPEČNOST POUŽITÍ AHA V KOSMETICE	35
5.1 BEZPEČNOST POUŽITÍ CHEMICKÝCH PEELINGŮ	36
ZÁVĚR	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	39
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	45
SEZNAM OBRÁZKŮ	47

ÚVOD

Hlavním cílem práce je charakterizovat jednotlivé alfa-hydroxykyseliny (AHA), které nacházejí pro své účinky uplatnění v kosmetice, popsat jejich charakteristické vlastnosti, které jsou při výběru konkrétní kyseliny do kosmetického přípravku stěžejní a nastínit, v čem se jednotlivé kyseliny mezi sebou liší. Dále popsat způsoby získávání nejpoužívanějších kyselin ať už chemickými či enzymatickými syntézami.

Dále budou charakterizovány jednotlivé mechanismy působení AHA na pokožku, které úzce souvisejí s tím, jakým způsobem lze daný účinek využít v konkrétních kosmetických přípravcích. Vysvětleny budou účinky běžné i ty specifické, které jsou připisovány jen konkrétním kyselinám.

Závěrem bude objasněna bezpečnost použití u kosmetických přípravků obsahujících AHA v běžném životě i kosmetickém salónu, kde budou uvedeny zásady a doporučení pro bezpečné používání kosmetických přípravků s AHA.

1.1 Historie problematiky AHA

V kosmetice se AHA využívají v mnoha přípravcích, protože mají polyfunkční charakter. Jejich záběr účinnosti je opravdu široký. V kosmetickém produktu se mohou objevit jako exfoliant, humektant či antioxidant. Dále mohou být přidány pro úpravu pH produktu nebo mohou mít specifické vlastnosti, například antibakteriální.

Už od pradávna člověk využíval účinky AHA ve svůj prospěch, aniž by věděl, že blahodárnost zkrášlovacího rituálu zapříčiňuje právě kyselina obsažená v potravinách. Jedním z příkladů je starověký Egypt. Tehdejší královna Kleopatra (51–30 př. n. l.) se údajně koupala v kyselém mléce. Využívala tak účinky kyseliny mléčné. Dalším příkladem z historie může být Francouzská revoluce (1789–1799), kdy si dámy z královského dvora aplikovaly na obličej kvašené víno, tedy kyselinu vinnou [1, s. 460].

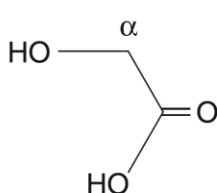
Důležitý objev učinili Van Scott a Yu v roce 1984. Ve své studii [2] uvádějí, že lokální aplikace AHA má pozoruhodný vliv na stav kůže u ichtiotických dermatitid. Později prokázali, že tyto kyseliny jsou schopny zvrátit i kožní příznaky stárnutí, což bylo potvrzeno i četnými výzkumy kosmetických společností v polovině devadesátých let [2, s. 867–879], [3, s. 10] [4, s. 1], [5, s. 9–10].

2 HYDROXYKyseliny

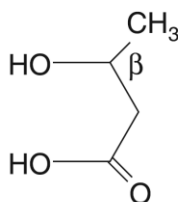
Jedná se o organické karboxylové kyseliny s jednou, nebo více hydroxylovými skupinami (-OH) navázanými na aromatický, nebo alifatický uhlíkový řetězec. Jsou to malé polární molekuly. Studie ukazují, že hydroxylová skupina v kyselině má neutrální povahu. Kyselý charakter tedy udává molekule karboxylová skupina (-COOH). Vlastnosti kyselin ovlivňuje také jejich konfigurace. Většina hydroxykyselin (HA) je zastoupena dvěma stereoisomerními strukturami. Takové struktury pak nazýváme enantiomery a označujeme je písmeny S a R. U některých kyselin se přirozeně vyskytují oba typy enantiomerů, které ovšem mohou mít odlišnou funkci při aplikaci na pleť [4, s. 1], [6, s. 83–84].

2.1 Klasifikace hydroxykyselin

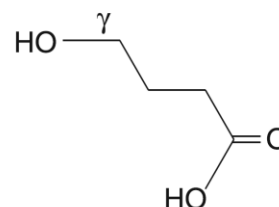
Hydroxykyseliny můžeme zařadit do různých kategorií například podle umístění a počtu hydroxylové skupiny nebo druhu uhlíkového řetězce. Umístění hydroxylové skupiny na uhlíkovém řetězci značíme pomocí písmen řecké abecedy (α , β , γ) podle toho, na kterém uhlíku v pořadí od karboxylu je hydroxylová skupina navázána, α -uhlík je první uhlík následující za karboxylovou skupinou, β -uhlík je pak druhý v pořadí, za ním γ -uhlík a tak dále (viz Obr. 1) [7, s. 57].



α -hydroxykyselina
(kyselina glykolová)



β -hydroxykyselina
(kyselina 3-hydroxymáselná)

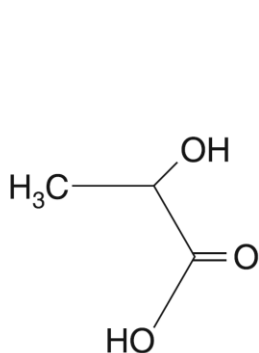


γ -hydroxykyselina
(kyselina 4-hydroxymáselná)

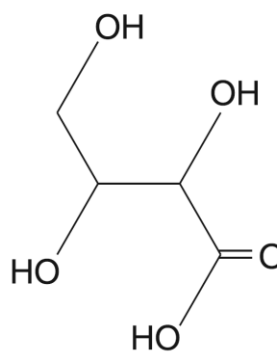
Obr. 1. Hydroxykyseliny

Zdroj: převzato a upraveno podle [7]

Podle počtu hydroxylových skupin vázaných v molekule rozlišujeme monohydroxykyseliny s jednou hydroxylovou skupinou a polyhydroxykyseliny s více navázanými hydroxylovými skupinami (viz Obr. 2) [7, s. 57].



Monohydroxykyselina
(kyselina mléčná)

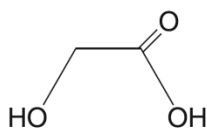


Polyhydroxykyselina
(kyselina 2,3,4-trihydroxymásečná)

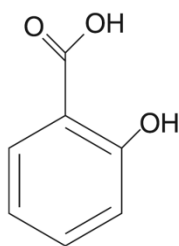
Obr. 2. Monohydroxykyseliny a polyhydroxykyseliny

Zdroj: převzato a upraveno podle [7]

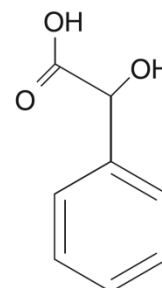
Hydroxykyseliny jsou vázány buď na alifatický řetězec (alkylové HA), nebo se můžeme setkat s označením aromatické HA. Jedná se o HA, které mají hydroxy skupinu navázanou na aromatické jádro. Zvláštním případem jsou pak kyseliny, které mají na alifatickém řetězci HA navázaný fenyl tzv. arylalifatické HA (arylalkylové HA), (viz Obr. 3) [7, s. 57].



Alifatická hydroxykyselina
(kyselina glykolová)



Aromatická hydroxykyselina
(kyselina salicylová)



Arylalifatická hydroxykyselina
(kyselina mandlová)

Obr. 3. Alifatické, aromatické a arylalifatické HA

Zdroj: převzato a upraveno podle [7]

3 ALFA-HYDROXYKyseliny

Nejběžnější zástupci AHA jsou kyselina glykolová (*Glycolic Acid – GA*), kyselina mléčná (*Lactic Acid – LA*), kyselina jablečná (*Malic Acid – MA*), kyselina vinná (*Tartaric Acid – TA*) a kyselina citronová (*Citric Acid – CA*). Také se mohou používat AHA s aromatickým jádrem na řetězci, třeba kyselina mandlová (*Mandelic Acid – MaA*). Tyto kyseliny se přirozeně vyskytují v potravinách, především v ovoci, proto jsou také někdy nazývány jako ovocné kyseliny. Najdeme je například v cukrové třtině, citrusech, jablku, vinných hroznech, kyselém mléce, mandlích. Některé z kyselin – *LA*, *MA* a *CA* jsou důležitou součástí biochemických pochodů v lidském těle, jako je Krebsův cyklus. Alfa-hydroxykyseliny můžeme systematicky rozdělit do tří podskupin a to na alkylové, arylalkylové a polykarboxylové kyseliny [1, s. 461], [4, s. 2–3], [7, s. 58], [8, s. 114].

Významným krokem k zařazení AHA do kosmetické praxe byla jejich samotná syntéza. Kyseliny se přirozeně vyskytují v potravinách, a jak již bylo uvedeno především v ovoci. Většina z nich je v přírodě syntetizována rostlinami a mikroorganismy v různých metabolických drahách. Jednotlivé kyseliny se podařilo izolovat z potravin; v roce 1769 kyselinu vinnou, 1780 kyselinu mléčnou, 1784 kyselinu citronovou z citronové šťávy a 1785 kyselinu jablečnou z nezralých jablek. Separace ze samotných potravin je ale nákladná a časově náročná (AHA mohou být separovány v komplexních směsích z ovoce pomocí kapilární elektroforézy a přímou detekcí ultrafialovými (UV) vlnami při 200 nm) [6, s. 84], [7, s. 62], [8, s. 894], [9, s. 893-896].

Pokrok ve vědě vedl k vývoji mnoha chemických a enzymatických metod pro jejich průmyslovou výrobu. Existuje několik metod pro syntézu jednotlivých AHA, které závisí na jejich komerčním významu a dostupnosti výchozích chemických látek. Kyselina glykolová a kyselina mandlová jsou jedny z AHA, které mají velký potenciál právě v kosmetickém průmyslu [7, s. 62–64].

Enzymatická produkce AHA nabízí výrazné výhody oproti chemickým metodám, díky specifickým enzymům a mírným reakčním podmínkám. Tento typ syntézy nabývá na významu hlavně v posledních letech díky ekologicky šetrné biotransformaci a snadnosti výroby biokatalyzátorů. Kyselina glykolová byla syntetizována za použití nitrilázy. Tento proces je popsán v kap. 3.1.1 u příslušné AHA [7, s. 65–66].

3.1 Alkylové alfa-hydroxykyseliny

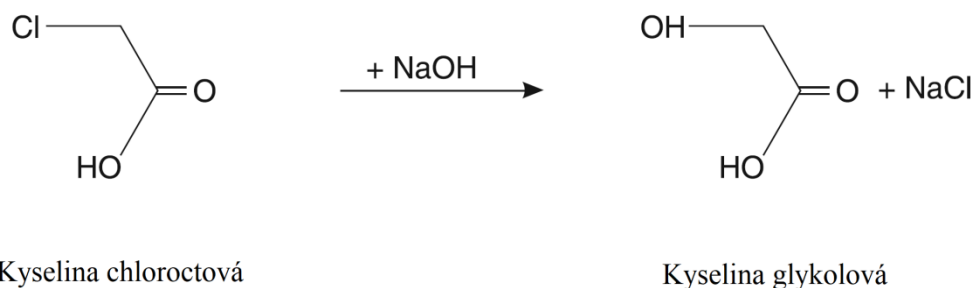
Tyto AHA řadíme mezi nejjednodušší, protože hydroxylová skupina je vázána na α -uhlíku alkylového uhlíkového řetězce jednoduchého alifatického uhlovodíku. Do této podskupiny řadíme kyselinu glykolovou (*Glycolic Acid – GA*) a kyselinu mléčnou (*Lactic Acid – LA*) [7, s. 58].

3.1.1 Kyselina glykolová

Systematický název této ovocné kyseliny je 2-hydroxyethanová kyselina. Jedná se o monokarboxylovou kyselinu se sumárním vzorcem $C_2H_4O_3$. Je to vůbec nejjednodušší AHA s nejmenší molekulou, čemuž odpovídá i nejnižší molární hmotnost 76,05 g/mol. Hodnota pK_a je 3,83. Všechny ostatní AHA lze považovat za deriváty této kyseliny. V kosmetických přípravcích bývá součástí krémů, především se ale využívá pro svůj keratolytický efekt. Účinnost závisí na pH kosmetického přípravku. Je dobře rozpustná ve vodě a díky malé molekule snadno proniká do pokožky. Kyselinu glykolovou najdeme například v cukrové třtině, ananasu, hroznech nebo melounech [4, s. 2], [6, s. 84], [7, s. 58], [10, s. 328], [11, s. 47].

Chemická syntéza *GA*

Tato kyselina se syntetizuje reakcí kyseliny chloroctové s hydroxidem sodným a následným znovu okyselením se získá *GA* a chlorid sodný (viz Obr. 4). Může být také syntetizována oxidací ethylenglykolu v alkalickém prostředí. Uvádí se i jiné metody, jako například hydrogenace kyseliny šřavelové vodíkem, nebo hydrolýza kyanhydridu odvozeného od formaldehydu, které se ale v praxi nevyužívají [7, s. 63–64], [8, s. 1], [12].



Obr. 4. Chemická syntéza kyseliny glykolové

Zdroj: převzato a upraveno podle [7]

Enzymatická syntéza *GA*

Kyselina glykolová je syntetizována chemoenzymatickou cestou z glykonitrilu na glykolát amonný, za použití nitrilázy odvozené od *Acidovorax facilis*. Glykolát amonný se následně přemění na kyselinu glykolovou iontovou výměnou [7, s. 66].

3.1.2 Kyselina mléčná

Systematický název *LA* je 2-hydroxypropanová kyselina se sumárním vzorcem $C_3H_6O_3$. Přirozeně se vyskytují oba enantiomery kyseliny. S-enantiomer kyseliny mléčné je produkován mikroorganismy rodu *Lactobacillus*, ty jsou zodpovědné za typický pach a chuť kyselého mléka, ve kterém je obsažena. Dále ji lze nalézt v kefiru, jogurtech, kyselém zelí a kvašené zelenině. Tato kyselina je také konečný produkt anaerobního metabolismu kožních buněk. Naproti tomu R-enantiomer kyseliny je produkován při anaerobní práci svalstva a můžeme ho také nalézt v jablcích, rajčatech, opiu nebo námelu. Taktéž se jedná o monokarboxylovou kyselinu, jejíž molární hmotnost je 90,108 g/mol. Oproti *GA* je pK_a *LA* o něco vyšší 3,86. Kyselina mléčná je součástí přirozeného hydratačního faktoru, a jelikož má vysokou vstřebatelnost do pokožky je považována za výborný humektant. Připisuje se jí pozitivní vliv na tvorbu ceramidů, což přispívá k obnově bariérových lipidů kůže [4, s. 2], [6, s. 84], [7, s. 58], [10, s. 328], [11, s. 41–42].

3.2 Arylalkylové alfa-hydroxykyseliny

Arylalkylové AHA se vytvoří tak, že se fenylová skupina naváže na α -uhlík alkylové alfa-hydroxykyseliny. Příkladem takové AHA je *MaA* nebo kyselina benzilová [7, s. 59].

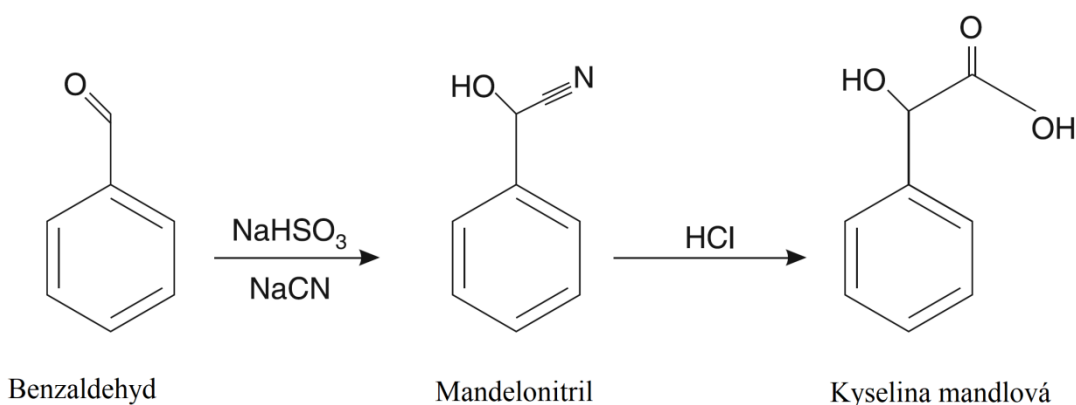
3.2.1 Kyselina mandlová

Kyselina mandlová, neboli kyselina 2-fenyl-2-hydroxyethanová. Sumární vzorec této kyseliny je $C_8H_8O_3$. Kyselost udávaná v pK_a je rovna hodnotě 3,41. Z hlediska počtu karboxylových skupin ji řadíme do monokarboxylových kyselin. Molární hmotnost kyseliny je 152,22 g/mol. Přimo z mandlí, ve kterých se vyskytuje, jí můžeme získat hydrolýzou mandlového extraktu. Pro své antibakteriální účinky je využívána v medicíně i kosmetických přípravcích, kdy bývá častou náhradou *GA*, díky její šetrnosti a velikosti molekuly, která neproniká tak hluboko do pokožky. Brání shlukování melaninu a tím zabraňuje tvorbě pigmentových skvrn. Je taktéž dobře rozpustná ve vodě [6, s. 84], [7, s. 58], [10, s. 328], [11, s. 48].

Chemická syntéza *MaA*

Kyselinu mandlová je důležitá AHA, která má široké uplatnění. Chemicky je syntetizována dvěma různými způsoby z benzaldehydu nebo acetofenonu.

Kyselina mandlová se připravuje z benzaldehydu přes kyanohydriny. Konkrétně reakcí benzaldehydu s NaCN v přítomnosti hydrogensíranu sodného a následným zpracováním kyselinou chlorovodíkovou (viz Obr. 5) [7, s. 62].



Obr. 5. Syntéza kyseliny mandlové z benzaldehydu

Zdroj: převzato a upraveno podle [7]

Syntéza z acetofenonu je založená na tom, že vzniká dichloracetofenon produkovaný chlorací acetofenonu v přítomnosti ledové kyseliny octové. Ta následně reaguje s NaOH a HCl za vzniku kyseliny mandlové [7, s. 63].

3.3 Polykarboxylové alfa-hydroxykyseliny

Některé AHA mohou obsahovat více než jednu karboxylovou skupinu. Například *MA* a *TA* obsahují dvě karboxylové skupiny, jsou to tedy dikarboxylové HA. Kyselina citronová obsahuje tři karboxylové skupiny v molekule, je tedy označována za trikarboxylovou HA. Tím že, tyto kyseliny obsahují v molekule více karboxylových skupin, nastává situace, že poloha hydroxylové skupiny může být mylně označena jako β . U správného značení se ovšem začíná počítat vždy od karboxylu, který je nejbližší hydroxylové skupině, tedy označení hydroxylové skupiny α . Využití těchto kyselin v kosmetických přípravcích je minoritní [7, s. 59], [11, s. 46].

3.3.1 Kyselina jablečná

Jablečná kyselina, jinak také 2-hydroxy-1,4-butandikarboxylová kyselina je dikarboxylová AHA se sumárním vzorcem $C_4H_6O_5$. Hodnota pK_a je rovna 3,40; tedy velmi blízká hodnotě *MaA*. S rostoucím počtem karboxylových skupin je vyšší i její molární hmotnost, která je rovna hodnotě 134,13 g/mol. Přirozeně se vyskytuje v jablcích [4, s. 2], [6, s. 84], [7, s. 58], [10, s. 328].

3.3.2 Kyselina vinná

Druhou dikarboxylovou kyselinou je *TA*, neboli 2,3-hydroxy-1,4-butandikarboxylová kyselina. Její sumární vzorec je $C_4H_6O_6$ a molární hmotnost 150,13 g/mol. Acidita kyseliny při 25 °C je rovna hodnotě pK_a 3,22. Najdeme ji ve vinné révě, především pak ve fermentovaných plodech [4, s. 2], [6, s. 84], [7, s. 58], [10, s. 328].

3.3.3 Kyselina citronová

Jedinou trikarboxylovou kyselinou hojně využívanou v kosmetice je *CA* se systematickým názvem 2-hydroxy-1,2,3-propantrikarboxylová kyselina. Její sumární vzorec je $C_6H_8O_7$. Třem karboxylovým skupinám v molekule odpovídá i nejvyšší molární hmotnost 192,18 g/mol. Hodnota pK_a kyseliny je nejnižší z uváděných, a to 3,09. Najdeme ji v citrusích a ananasu [4, s. 2], [6, s. 84], [7, s. 58], [10, s. 328].

4 ÚČINNOST AHA

Jak již bylo zmíněno výše, AHA jsou slabé karboxylové kyseliny. Ve vodném roztoku nejsou schopny zcela disociovat. Síla HA se odvozuje od jejich disociační konstanty K_a (hodnota pK_a je záporný dekadický logaritmus K_a). Hodnotu pK_a lze považovat za hodnotu pH, při které je 50 % HA ve formě soli. Znalost pK_a je důležitá při formulaci kosmetického přípravku s AHA, protože platí, že pokud je hodnota pK_a blízká pH přípravku, uplatňují se u AHA keratolytické účinky. Naopak pokud se pracuje s přípravky, kdy je pH výrazně vyšší než pK_a AHA, pak se uplatňují především účinky humektační. Z výše uvedených pK_a AHA, které se pohybovaly v rozmezí 3,09-3,86, vyplývá, že právě u přípravku, jako je chemický peeling, který se sám hodnotě pH ~ 3 blíží, nebo má hodnotu pH nižší, můžeme s jistotou očekávat exfoliační efekt [11, s. 45–46].

Jeden z hlavních účinků AHA je narušení soudržnosti keratinocytů v kožní bariéře a jejich následná přeměna v korneocyty. Účinnost je závislá na několika faktorech, jako jsou pH kosmetického přípravku, koncentrace AHA a expoziční doba. V chemickém peelingu se AHA používají v přesně stanovených časových intervalech expozice a o známé koncentraci např. 35 % – 4 min, 52,5 % – 3 min, 70 % – 2 min v různých intervalech po dobu až 6 měsíců. Naproti tomu u kosmetických přípravků, kde AHA působí jako humektanty, či regulují pH není potřeba přísně kontrolovat dobu expozice [4, s. 2], [6, s. 84–85].

4.1 Biologická odpověď kožních buněk po aplikaci AHA

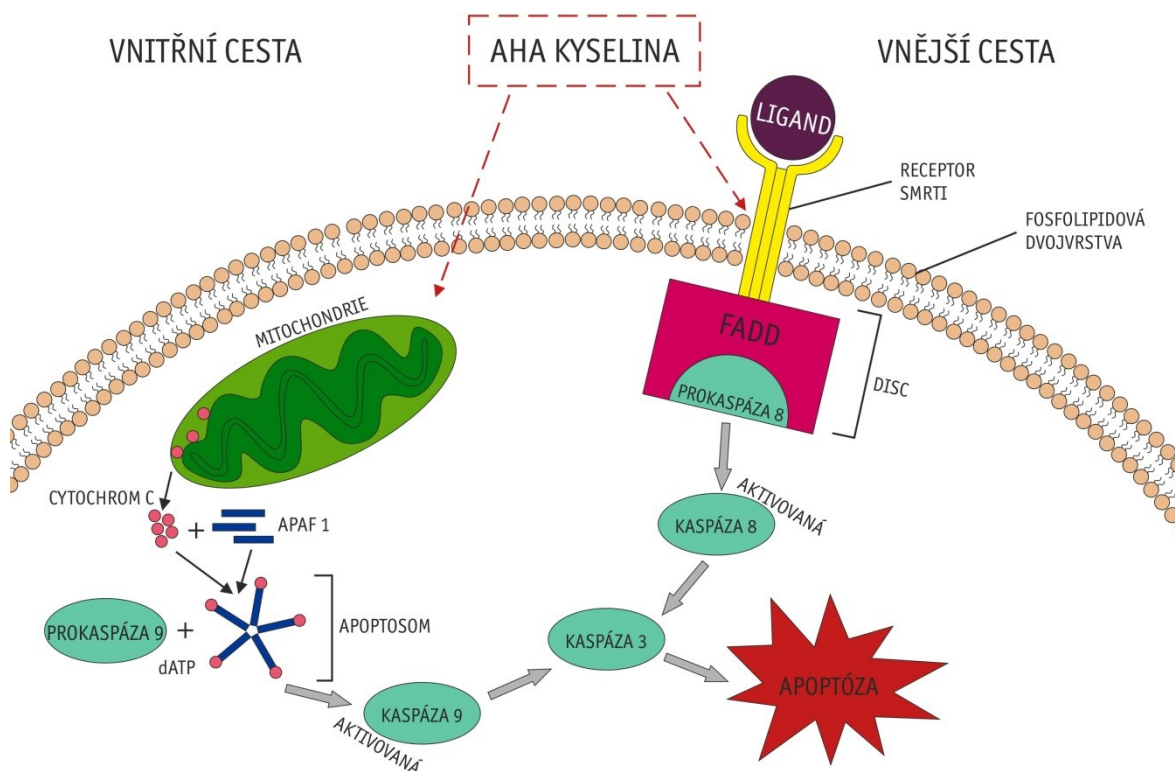
Jedno z hlavních využití výše uvedených kyselin je jejich schopnost indukovat apoptózu keratinocytů. Apoptóza (programovaná buněčná smrt) může být aktivována vnitřní cestou závislou na funkci mitochondrií a vnější cestou, která je závislá na tzv. receptorech smrti (death-receptors) [8, s. 113], [13, s. 19].

Vlastní vykonavatelé apoptózy jsou kaspázy (Cysteine ASpartate ProteASES), které jsou v každé buňce přítomny jako zymogeny (prokaspázy). Jedná se o proteázy s cysteinem navázaným v aktivním místě. Dělíme je na iniciátorové (označeny čísla 2, 8, 9, 10), které jsou aktivovány proteolýzou a efektorové (označeny čísla 3, 6, 7), ty aktivujeme regulovanou protein-protein interakcí [8, s. 113], [13, s. 19].

Tang [4, s. 3–5] provedl simulované testy s HaCaT buňkami (buňky získány z biopsií nádorových buněk, které nevykazují kancerogenní činnost, ale v laboratorních podmínkách

jsou mnohem déle životaschopné, než obyčejné lidské keratinocyty). Tyto testy prokázaly, že kyselina citronová a jablečná uvolňují cytochrom c (proapoptický faktor) z intermembránového prostoru. Následně vzniká apoptosom, tedy molekula složená z cytochromu c, dATP, prokaspázy-9 a Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor 1). Vzniklý apoptosomu odtrhne aktivovanou iniciátorovou kaspázu-9, která indukuje apoptózu mitochondriální cestou přes efektorovou kaspázu-3 kaskádovou reakcí [8, s. 115–116].

Kyselina citronová dokáže aktivovat také kaspázu-8, která se váže na FADD (Fas-associated death domain) a vzniká komplex DISC (Death-inducing signaling complex). Po aktivaci kaspázy-8 nastává apoptóza dráhou receptoru smrti také přes efektorovou kaspázu-3 kaskádovou reakcí (viz Obr. 6). Tato vlastnost kyselin se využívá především v chemickém peelingu k ošetření keratóz, jizev po akné, aknézní pleti, dále také na stárnoucí plet' namáhanou UV zářením. Zkrátka všude tam, kde je potřeba odstranit vrchní vrstvu kůže, pro omlazení a lepší průnik aktivních látek [4, s. 3–5], [8, s. 115–116].



Obr. 6. Indukce apoptózy

Zdroj: upraveno podle [4] – vytvořila Bc. Barbora Podešvová v Corel DRAW X7

4.1.1 Chemický peeling

Chemický peeling se používá k řízenému poranění kůže za pomoci chemických látek, které narušují soudržnost vrchní vrstvy pokožky. Obvykle se tohoto procesu využívá k odstranění jizev po akné, hlubokých vrásek, pigmentací a jiných nedokonalostí. K odstranění svrchních částí *epidermis* se využívají tzv. povrchové peelingsy a k odstranění hlubších vrstev v části *epidermis* (bazální vrstva) střední a hluboké peelingsy, které dosahují až k dermoepidermální junkci. Mezi nejpoužívanější exfoliační činidla patří právě AHA, jako jsou *GA*, *LA* a *MaA*. Dále kyselina salicylová (*Salicylic Acid – SA*), fenol, trichloroctová kyselina – tato kyselina je v současné době zakázána, zvyšuje riziko trvalého poškození. [1, s. 462], [4, s. 1], [14, s. 179–181], [15, s. 332–333], [16, s. 157].

Účinky chemického peelingu s AHA jsou podpora regenerace kůže, prevence prekanceróz, narušení syntézy melaninu, novotvorba kolagenních vláken nebo zvýšení množství fibroblastů. Se vzrůstající koncentrací AHA a klesajícím pH vzrůstá účinnost chemického peelingu. Při aplikaci chemického peelingu hraje důležitou roli správný výběr chemické látky, její koncentrace, pH, ale také problém, který má peeling na pokožce řešit. Průnik kyseliny do pokožky je ovlivněn aktuálním stavem kožní bariéry a množstvím mazových žláz. Důležitou roli hraje také fototyp a věk klienta [16, s. 158].

Před samotnou aplikací peelingu je nutná příprava, jejíž doba závisí na závažnosti řešeného problému klienta; může být dlouhodobá – 4 týdny, střednědobá – 2 týdny a krátkodobá – několik dnů před aplikací. Před každou aplikací se provádí tzv. bezprostřední příprava (např. příprava 5% *GA* při pH 4,5), kdy dojde k prvnímu narušení mezibuněčných spojů. Zvláštní typ přípravy může být pomocí Jessnerova peelingu (Jessner solution – JS). Jedná se o speciální roztok, který je pojmenovaný po svém objeviteli, americko-německém dermatologovi Maxi Jessnerovi. Je složen z 14% kyseliny salicylové, 14% resorcinolu a 14% *LA* rozpuštěných v 95% ethanolu při pH 1,65. Hloubka působení roztoku závisí na počtu nanesených vrstev. Aplikací jedné, dvou nebo tří vrstev JS dosáhneme velmi povrchového peelingu, který můžeme využít jako přípravu například před aplikací 20% *GA*. Šetrnější variantou je pak modifikace JS, která je složena z 14% kyseliny salicylové, 8% *CA* a 14% *LA* rozpuštěných taktéž v ethanolu. Obě varianty je nutno na závěr neutralizovat [16, s. 158–159], [17, s. 270–271], [18, s. 42–43], [19, s. 42].

Ovocné kyseliny se pro chemický peeling používají často samostatně, např. *GA* v koncentraci 20–70% při pH 1,6–0,6. Během prvního ošetření se *GA* nechává na pleti 1–3 minuty. Běžně se provádí série 4–6 ošetření s odstupem cca 3 týdnů (úplné vyhojení

pokožky) až do dosažení požadovaného vzhledu. Zvýšení účinnosti peelingu s *GA* můžeme docílit pomocí vrstvení jiných AHA. V první fázi je proveden nános AHA pouze na postižená místa (např. u akné nanese roztok 20% *MaA* a 10% *CA* při pH 1,6). Vrstva se nechá 1 minutu působit samostatně a poté je překryta vrstvou *GA* na celý obličej. Ošetření je vždy zakončeno neutralizací 5–7% roztokem hydrogenuhličitanu sodného [16, s. 159].

K ošetření se také mohou používat směsi AHA, nebo kombinace AHA a β -hydroxykyselin (BHA), kde je nejznámějším zástupcem *SA*. Dále se také může použít směs jiných exfoliačních činidel. Kombinace více chemických látek má za následek usnadnění průniku do kůže, konkrétně do mazových žláz s menší iritací pokožky. Kombinované peelinky mají většinou vyšší pH (1,5–2,2) a k neutralizaci se užívá roztok hydrogenuhličitanu sodného 5–10% [16, s. 159].

Publikace [16, s. 159] dokládá, že kombinované peelinky dosahují lepších účinků a zároveň se jejich použitím snižuje riziko komplikací. Příkladem kombinovaného peelingu je *JS*. Využívá se jako povrchový peeling na odstranění jizev po akné, nebo pigmentových skvrn. Ve srovnání se 70 % *GA* byl *JS* při testech jednoznačně účinnější při aplikaci na aknézní pleť. Doba rekonvalescence včetně obnovy kožního krytu se značně snížila [17, s. 271–273], [18, s. 43–44].

Zvláštním případem kombinovaného peelingu je směs kyseliny fytové a ovocných kyselin (*GA*, *LA* a *MaA*). Touto směsí lze dosáhnout intraepidermálního peelingu s řízenou penetrací kyselin. Roztok má nízké pH (0,5–1,0) a nižší disociační konstantu než samotná *GA*. Jeho unikum je však v tom, že nepřekračuje přirozenou pufrovací kapacitu kůže. Kyseliny se vzájemně doplňují a usnadňují průnik do pokožky. Nejprve proniká přes *stratum corneum (SC)* *GA*, pak *LA* a nakonec *MaA*. Kyselina fytová prostupuje *SC* jako poslední, protože má největší molekulu a nejedná se o AHA. Její účinky nastupují až v období po nanesení peelingu, kdy neutralizuje volné radikály (funguje jako antioxidant), které vznikají v průběhu hojení. U peelingu tohoto typu musí být aplikována vždy jen jedna vrstva a aplikace není zakončena neutralizací [16, s. 159–160].

4.2 AHA jako humektanty

Suchá kůže je jeden z nejčastějších problémů, se kterým se můžeme v praxi setkat. Existují dva základní typy suché kůže. Ten první je způsoben dlouhodobým vystavením pokožky prostředí o nízké vlhkosti a špatným klimatickým podmínkám. Druhý typ je zapříčiněn stárnutím a s tím spojenými fyzikálně-chemickými změnami. Celkový stav kůže, je vyvolán komplexními interakcemi mezi oběma složkami. Vliv mají také užívaná farmaka a aplikované kosmetické přípravky, které při nevhodném, nebo nesprávném použití mohou stav kůže zhoršovat [20, s. 18].

Kůže přirozeně obsahuje určité množství vody, která je v *epidermis* spojena společně s hydrofilními částmi polárních lipidů a s keratinovými vlákny. Obecně lze ve *SC* nalézt tři druhy vody s různými molekulárními mobilitami. Pokud je obsah vody ve *SC* pod 10 %, primární voda je pevně vázána na polární místa proteinů [21, s. 677].

Mezi důležitý faktor, který váže vodu v korneocytech *SC* je přirozený hydratační faktor (Natural Moisturizing Factor – NMF), který představuje 15–20 % z celkové hmotnosti *SC*. Složkami NMF jsou například aminokyseliny, pyrrolidonkarboxylová kyselina (PCA), močovina, nebo *LA*. Zároveň s výskytem složek NMF se v kůži vyskytuje epidermální protein filaggrin. Jeho obsah souvisí s množstvím NMF v kůži. *Stratum corneum* má schopnost regulovat zásoby filaggrinu v reakci na změnu vnější vlhkosti. Pružnost kůže a schopnost *SC* vázat vodu je úměrná obsahu složek NMF a filaggrinu [20, s. 18], [21, s. 677].

Po aplikaci AHA kyselin na *epidermis* se zvýší kapacita zadržování vody a dojde k celkovému zvýšení turgoru a hydratace kůže, i když jsou kyseliny přirozenou součástí NMF, nemají hydratační vlastnosti samy o sobě, pouze spouští sled biochemických reakcí vedoucích ke zvýšení hydratace pokožky [21, s. 678], [22, s. 72–74].

Základním mechanismem je, že AHA aktivují syntézu glykosaminoglykanů (GAG) v mezibuněčné hmotě. Glykosaminoglykany jsou dlouhé nevětvené heteropolysacharidy tvořené opakujícími se disacharidovými jednotkami, v nichž je vždy jedním členem uronová kyselina a druhým glukosamin. Glykosaminoglykany obsahují síru (s výjimkou kyseliny hyaluronové) či karboxylové skupiny, které mají záporný náboj. Ten přitahuje kationty především Na^+ , které jsou osmoticky aktivní. Osmóza vede k navázání velkého množství vody. Do této skupiny látek patří kyselina hyaluronová, chondroitinsulfát, keratansulfát. Suchá kůže je také příznakem špatné bariérové funkce a nesprávné tvorby

SC. Bylo prokázáno, že aplikací AHA se zvyšuje množství ceramidů ve SC, čímž napomáhá správné funkci bariérové vrstvy kůže [21, s. 678], [22, s. 72–74].

Klinické zlepšení příznaků suché atopické kůže však nutně neznamená i zlepšení úrovně transepidermální ztráty vody (Transepidermal Water Loss – TEWL), jak ukazuje studie podle Vilaplan [23, s. 29–31], kde bylo měření provedeno s laktátem sodným, tedy solí LA [21, s. 678].

4.2.1 Problematika formulování emulzí s AHA

Protože jsou AHA velmi polární molekuly, jsou dobře rozpustné ve vodě, ale jen mírně rozpustné v oleji. To hraje roli při tvorbě emulzí, především typu olej ve vodě (O/V). Rozdělení AHA v emulzi O/V může být ovlivněno polaritou jednotlivých fází. Bylo zjištěno, že zvýšením podílu AHA v olejové fázi emulze O/V se výrazně snížilo podráždění pokožky po jejím nanesení. Pokles iritace mohl být způsoben přítomností AHA v obou fázích emulze a jejím postupným uvolňováním. Účinnost vodné fáze s AHA po kontaktu s pokožkou nastupuje ihned po aplikaci. Kdežto AHA, které jsou rozpuštěny v olejové fázi emulze, se z této fáze uvolňují pomaleji. Tedy čím více AHA je obsaženo právě v tukové fázi, tím více kyseliny se bude pozvolně uvolňovat, což má za následek snížené podráždění bez snížené účinnosti dané AHA. Podíl AHA, který je rozpuštěn v olejové fázi emulze O/V, může být zvýšen použitím jednoho nebo více polárních rozpouštědel rozpustných v oleji a omezením výskytu zvýšené koncentrace nepolárních složek v olejové fázi [24, s. 3].

Rozpustnost AHA v emulzích se věnoval také Al-Bawab [25, s. 140–145]. Sledoval rozpustnost AHA s různě dlouhými řetězci v systému voda/surfaktant a poté v systému voda/surfaktant/minerální olej. Jako zástupce povrchově aktivních látek (PAL) byl vybrán komerční tetraethylenoxid dodecylether (*Laureth 4*), protože tvoří ve vodném prostředí lamelární strukturu. Tvorba těchto struktur slouží k indikaci interakce AHA se strukturami podobnými lipidovým lamelám ve SC. Zástupce AHA s dlouhým řetězcem byla α -hydroxy isokapronová kyselina (HICA) a jako AHA s krátkým řetězcem byla použita LA. Dále byl k emulzi přidán bílý minerální olej. Použitý olej musí alespoň částečně rozpouštět AHA. Rámcové složení formulace krému tvořila voda (80 %), LA/HICA (5 %), *Laureth 4* (5 %) a minerální olej (10 %). Použití různě dlouhých řetězců AHA vedlo k odlišným výsledkům.

Formulace voda/*Laureth 4*/HICA:

- HICA se dobře rozpouštěla ve vodě (71 %), jelikož je to polární molekula.
- Naopak rozpustnost v *Laureth 4* byla velmi nízká (pouze 10 %).
- *Laureth 4* se ve vodě špatně solubilizoval.

Formulace voda/*Lureth 4*/*LA*:

- Kyselina se velmi dobře rozpouštěla v polárních rozpouštědlech (ve vodě).
- Zkrácením řetězce se docílilo plné rozpustnosti i v *Laureth 4*, napříč tomu, že se jedná o nepolární sloučeninu.
- Solubilizace *Laureth 4* ve vodě se mírně zlepšila.

Formulace předchozích emulzí s bílým minerálním olejem:

- Bylo zjištěno, že olej neinteraguje s roztokem voda/*Laureth 4* ani s kyselinou. Nicméně přidává emulzi specifické okluzivní vlastnosti, které jsou od uživatelů žádány. Vlastnosti kyselin zůstaly zachovány. Alfa-hydroxykyseliny mají tendenci dostat se co nejdříve z emulze ven a proniknout do kůže.

Mezi přípravky denního použití patří především hydratační krémy, noční krémy, denní krémy, krémy s krycí schopností a v zimním období také hutné výživné krémy tzv. cold creams. U běžných kosmetických formulací bývají často použity AHA jako *CA*, *GA*, *LA* v koncentracích od 0,02 % do 0,2 % za účelem úpravy pH. Také se využívá jejich schopnosti odstraňovat odumřelé vrstvy *SC* k lepšímu přístupu aktivních složek krému. Mohuiddin [20, s. 9–22] zmiňuje také to, že *LA* jako přirozená složka NMF může v hydratačním krému způsobovat iritaci pokožky v závislosti na použité koncentraci a pH přípravku. Taktéž poukazuje na možnou náhradu *CA* za konzervační přísadu účinnou, nicméně v posledních letech hodně diskutovanou.

4.3 AHA a UV záření

Sluneční světlo, které dopadá na povrch Země, se skládá ze spektra viditelného světla (VIS) o vlnových délkách 400–700 nm, dále z UV záření v rozmezí 290–400 nm vlnových délek a infračerveného (IR) spektra s vlnovými délkami 700–2400 nm. Energie a rozsah penetrace slunečního záření je závislá na velikosti vlnových délek [26, s. 98].

Čím kratší je vlnová délka, tím silnější je energie dopadajícího světla. Záření UVB (290–320 nm) s nejkratší vlnovou délkou, jehož paprsky dopadá na povrch Země, proniká

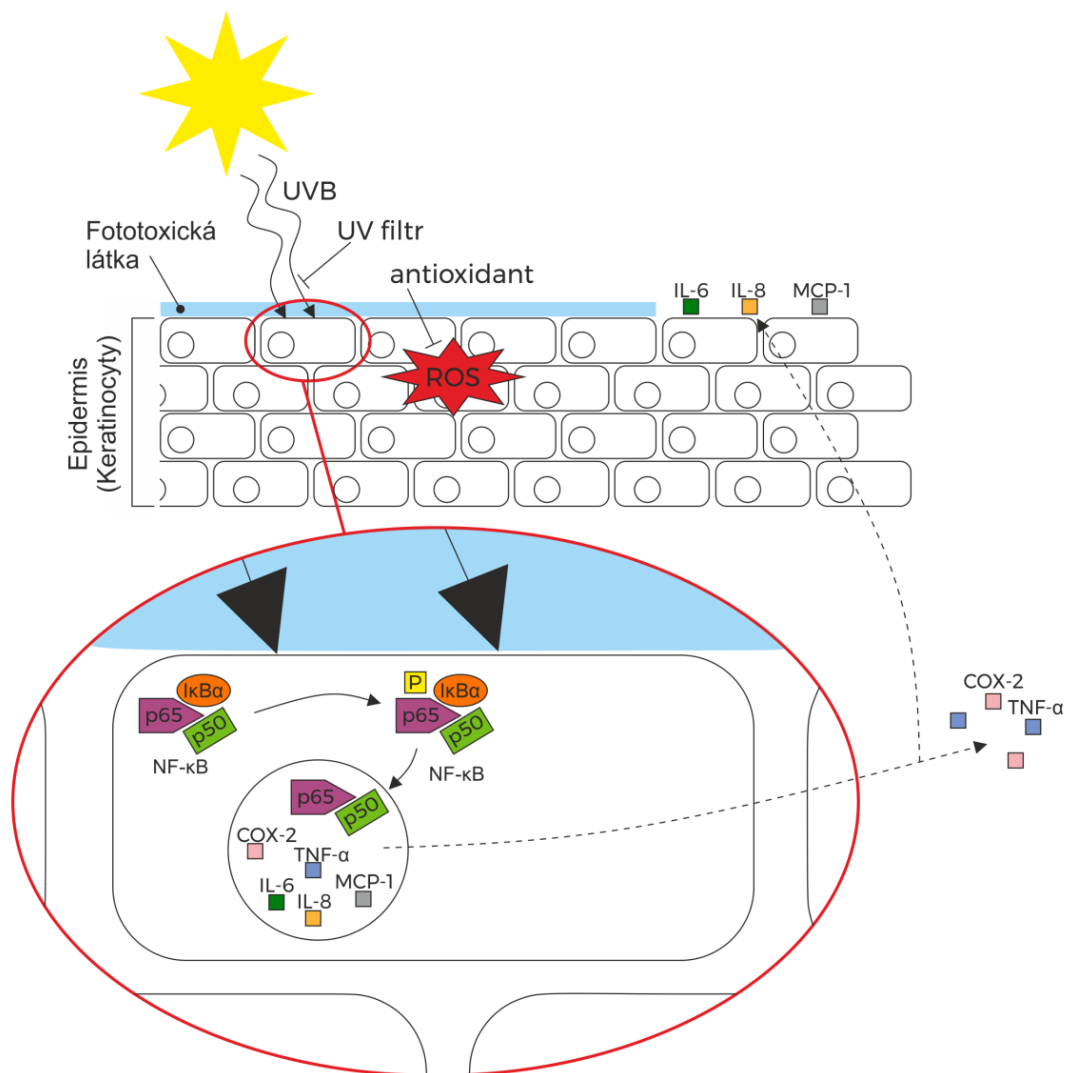
do svrchních vrstev pokožky (*epidermis*), způsobuje její zarudnutí až spálení, je hlavní příčinou rakovinotvorného bujení na kůži [26, s. 98].

Naopak čím delší je vlnová délka, tím hlouběji do kůže záření proniká. Záření UVA (320–400 nm) proniká do hlubších vrstev (*dermis*), je příčinou photoagingu a vzniku pigmentových skvrn. Právě proto jsou ultrafialové záření α (UVA) a ultrafialové záření β (UVB) v dopadajícím slunečním světle společně s fototoxickými látkami zodpovědné za fototoxicitu, tedy přehnanou reakci kůže na kontakt s těmito faktory. Působí jak povrchově tak hloubkově a navzájem se doplňují [26, s. 98].

Ultrafialové záření vyvolává na kůži mnohočetné negativní reakce, jako je akumulace reaktivních forem kyslíku (ROS), buněčnou apoptózu, poškození DNA, zastavení buněčného cyklu a tvorbou zánětlivých cytokinů [4, s. 6–7].

Fototoxicita je akutní reakce vyvolaná světlem, ke které dochází při kontaktu slunečního záření s fotoreaktivní chemickou látkou. Tyto látky jsou slunečním zářením následně přeměněny na látky toxické pro kožní buňky (viz Obr. 7) [26, s. 97].

Fototoxicita u AHA byla prokázána hlavně v souvislosti s aplikací chemického peelingu na kůži. Po aplikaci AHA byla vysledována zvýšená citlivost lidských buněk na UVB záření. Tuto změnu citlivosti na UV záření, která je důsledkem zvýšeného přenosu UVB záření, lze sledovat na tvorbě tzv. buněk spálených od slunce (sunburn cells – SBCs). Podle Greena, Yu a Van Scotta [15, s. 330] bylo prokázáno, že ošetření GA zvyšuje výskyt SBCs v kůži. Poškození lze předejít, nebo jej výrazně snížit použitím přípravku s ochranným faktorem, jak je znázorněno na Obr. 7.



Obr. 7. Fototoxicita

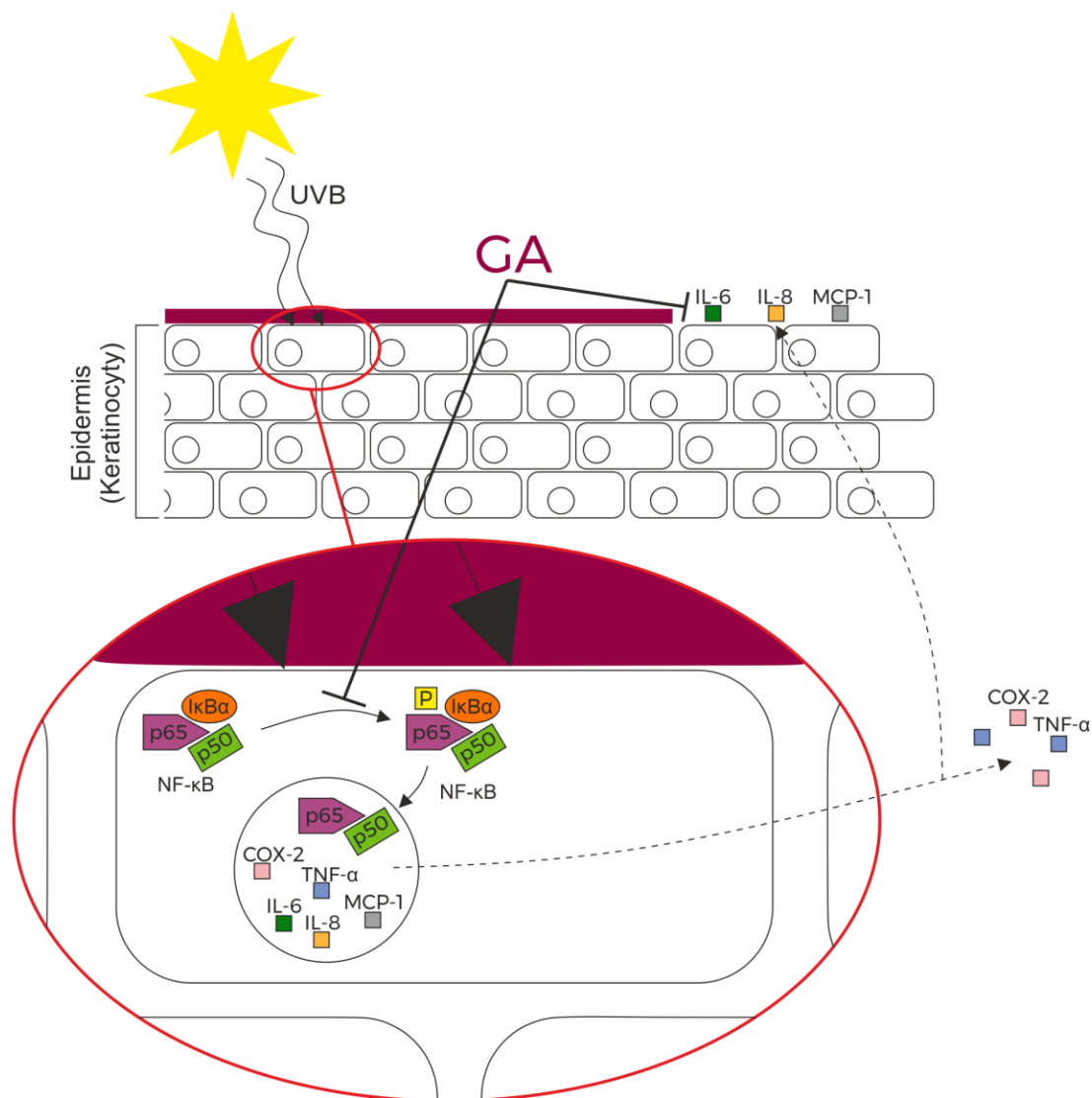
Zdroj: upraveno podle [4] – vytvořila Bc. Barbora Podešvová v Corel DRAW X7

K objasnění problematiky fototoxicity a fotoprotekce AHA bylo provedeno několik zkoušek na buněčných kulturách, jako jsou HaCaT keratinocyty. Ty byly získány ze vzorku melanomu od pacienta tak, že se z odebrané tkáně odřízl okrajový lem. Vzorek se odebírá vždy i s lemem zdravé tkáně. Nádor či névus je vždy vyříznut tak, aby na vyříznutém vzorku byla i již nezasažena zdravá tkáň, a aby bylo jasné, že se zhoubné buňky odebraly všechny. Jednalo se o histologicky zdravou tkáň. Oproti běžným keratinocytům (Normal Human Epidermal Keratinocytes – NHEK), které mají omezenou délku života za stanovených podmínek, jsou HaCaT výhodnou náhradou, protože jejich životnost v testech je mnohonásobně vyšší [4, s. 6].

Podle Ahn [27, s. 126–127] je GA fotoprotektivní. Ve své práci tvrdí, že 1 mM GA aplikovaná na HaCaT buňky inhibovala UVB-indukovanou cytotoxicitu (tedy oslabovala

tvorbu zánětlivých cytokinů) a taktéž oslabila apoptózu HaCaT buněk. Naopak Tang [4, s. 6] dokázal, že jak působení UVB záření, tak působení *GA* 5 mM (pH 7,1) mělo inhibiční účinek na proliferaci HaCaT buněk. Došlo ke zpomalení růstu keratinocytů, projevil se synergický antiproliferační účinek, který souvisel se zastavením buněčného cyklu a apoptózou keratinocytů.

K vysvětlení protichůdných výsledků Tang [28, s. 240–241] provedl další zkoušky. Testoval široké spektrum koncentrací *GA* na buněčných kulturách HaCaT a NHEK, a myších. Výsledky jasně prokázaly, že 0,1 mM *GA* (pH 7,4) byla schopna specificky regulovat tvorbu UVB zářením indukovaných zánětlivých cytokinů a chemokinů v keratinocytech, jako jsou: IL-6, IL-8 (Interleukiny), MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein), TNF (Tumor Necrosis Factor). Nejen že se snížil výskyt zánětlivých cytokinů, ale také byla inhibována tvorba hyaluronidázy, a tím se udržela stálá hladina kyseliny hyaluronové v kůži. Dále *GA* v nízké koncentraci účinně blokuje signální dráhy faktoru NF- κ B, který se nachází v buněčném jádře. Tím blokuje jeho aktivaci a translokaci do jádra (viz Obr. 8) a tím reguluje tvorbu zánětlivých cytokinů (COX-2, TNF- α , IL-8), které se tvoří u kůže vystavené UVB radiaci v kombinaci s fototoxickou látkou. [4, s. 7], [15, s. 283].



Obr. 8. Fotoprotekce

Zdroj: upraveno podle [4] – vytvořila Bc. Barbora Podešvová v Corel DRAW X7

Fotoprotektivním účinkem GA v nízkých koncentracích vyvstává otázka, zda mají i ostatní AHA podobné fotoprotektivní vlastnosti. Ve studii Tanga [4, s. 7–8] byly testovány LA, CA a MA. Tyto kyseliny byly aplikovány na buněčné kultury NHEK i HaCaT. Buňky neošetřené kyselinami byly následně vystaveny UVB záření a byl u nich prokázán zvýšený výskyt prozánětlivých cytokinů. U buněk ošetřených AHA a ozářených UVB paprsky se výsledky lišily podle druhu kyseliny. Byly prokázány fotoprotektivní vlastnosti u CA a MA, které byly schopny regulovat tvorbu prozánětlivých cytokinů IL-6 a MCP-1, tedy došlo k jejich sníženému výskytu. Dále bylo zjištěno, že i LA má fototoxické vlastnosti, protože právě tato kyselina měla synergický efekt s tvorbou prozánětlivých cytokinů IL-8. Ve studii je upozorněno na to, že imunitní odpověď cytokinů má několik drah a není

možné všechny nasimulovat během jednoho měření. Bohužel nejsou uvedeny konkrétní koncentrace, při kterých byly účinky zjištěny. Všechny výsledky poukazují na to, že ačkoliv *CA*, *MA*, *LA* i *GA* patří mezi AHA, mechanismus jejich účinků, ať už fotoprotektivních nebo fototoxických se může lišit.

4.3.1 Využití fotoprotektivních účinků AHA

Podle studie [29, s. 5], která se zaměřila na měření výskytu SBCs a velikosti minimální erytémové dávky (Minimal Erythema Dose – MED) na dobrovolnících bylo zjištěno, že přítomnost AHA v sunscreenu snížila výskyt SBCs. Na míru zarudnutí pokožky přítomnost AHA neměla veliký vliv. Konkrétně byla použita *GA* v koncentracích 1%, 4% a 8% a *LA* v koncentraci 1% a 6%. Tyto kyseliny byly kombinovány s 1–2 % *Ethylhexyl Methoxycinamátem (EHMC)* a 2,5 % *Benzophenonem-4* (UV filtry). Kyselina mléčná snižovala výskyt SBCs o něco lépe než *GA*. Obě kyseliny účinkovaly lépe v kombinaci s *EHMC*. Ochranný faktor (SPF) jednotlivých sunscreenů byl od 2,4 do 3,5.

Na základě výše uvedených výsledků byla navržena další studie [29, s. 6] zabývající se zjištěním potenciálu toxicity při denním použití AHA – *GA* 10%, pH 3,5 a BHA – *SA* 4%, pH 4,0. Testy byly provedeny na myších. Byly použity přípravky s SPF 4, 8 a 15. U *GA* došlo k mírnému snížení výskytu SBCs ve srovnání s kontrolním místem, a to u formulace s SPF 8 a 15. Samotná *GA* bez UV filtru naopak výskyt SBCs zvyšovala. Kyselina salicylová snižovala výskyt sama o sobě, nicméně v kombinaci s UV filtrem ve formě sunscreenu u SPF 4 a 8 výskyt SBCs výrazně rostl a potlačení výskytu nastalo pouze u formulace *SA* v emulzi s SPF 15.

Studie [29, s. 8] věnovaná možné prevenci vzniku karcinogenních névů byla prováděna na bezsrstých myších s prekancerózami po dobu 12 měsíců. Kontrolní skupinou byly myši s prekancerózami, kterým po dobu vystavování UV záření nebyly aplikovány žádné ochranné přípravky. Dalšímu souboru myší byly aplikovány roztoky 4% a 10% *GA* v kombinaci s UV filtrem ve formě sunscreenu s SPF 15. Ze získaných výsledků je zřejmé, že lokální podávání *GA* podpořené UV filtrem nezvyšuje fotokarcinogenezi. Do výsledků však nebyl zahrnut soubor myší s aplikací formulace ochranného krému bez přítomnosti *GA*. Vliv *GA* tedy nemohl být jasně prokázán.

4.3.2 Anti-aging efekt

Stárnutí kůže je komplexní biologický proces ovlivněný kombinací vnitřních a vnějších faktorů. Přirozeně stárnoucí pokožka, která je tenká, atrofická, jemně zvrásněná a suchá, se objevuje již po dvacátém roku života a s věkem se stav a kvalita zhoršuje. V dnešní době se však spíše setkáváme s předčasným stárnutím způsobeným nadměrnému vystavování kůže UV záření. Chronické a opakované vystavování kůže slunečnímu UV záření bez použití přípravku s SPF způsobuje výrazné morfologické, histologické, biochemické, ale i biofyzikální změny na kůži. Tyto změny souhrnně označujeme jako photoaging. Klinickými příznaky photoagingu jsou jemné i hrubé vrásky, suchá kůže, pigmentové skvrny, pihy, ale také prekancerózy. Nadměrné vystavování kůže UV radiaci může také vést k změnám některých mechanických vlastností *SC*, jako např. snížení soudržnosti buněk [12, s. 6–8], [30, s. 311–314].

Jedny z nejprostudovanějších a velmi často používaných látek s anti-aging efektem jsou právě AHA, především pak *GA*, *LA* a *TA*. Výše zmíněné vlastnosti kyselin, jako je schopnost deskvamace, hydratace, zvýšení GAG v kůži, zvýšení množství ceramidů ve *SC* a fotoprotektivita, mají zásadní vliv při zmírnění photoaging projevů. Ovšem i tady platí poučka, že nejspolehlivějším anti-aging přípravkem je ten s SPF. Na přípravcích obsahujících AHA by se na obalu mělo vyskytovat upozornění, že je potřeba po použití AHA použít i ochranný faktor [12, s. 19].

Studie podle Tranové [31 s. 10–16] se věnovala různým formulacím kosmetických přípravků s AHA a sledovala jejich vliv na stárnoucí pleť. Studované formulace byly:

- Jemný čistící přípravek obsahující 1% *LA*, 1% *GA*, *Niacinamide*, *Tocopheryl Acetate*, *Aqua*, *Glycerin*, *Decyl Glucoside*, *Disodium Cocoamphodiacetate*, *1,2-Hexanediol*, *Caprylyl Glycol*, *Xanthan Gum*, *Silica*, *Titanium Dioxide*, *Tin Oxide*, *Panthenol*, *Avena Sativa (oat) Kernel Oil*, *Ascorbyl Tetraisopalmitate*.
- Oční krém proti stárnutí obsahující 4% *GA*, *Niacinamide*, *Ascorbyl Palmitate*, *Tocopheryl Acetate*, *Aqua*, *Cyclopentasiloxane*, *Glycerin*, *Cetearylalcohol*, *Sodium PCA*, *Paraffinum Liquidum*, *Panthenol*, *Glyceryl Stearate*, *1,2-Hexanediol*, *Caprylyl Glycol*, *Cyclotetrasiloxane*, *PEG-100 Stearate*, *Xanthan Gum*, *Sodium Polyacrylate*, *Avena Sativa (oat) Kernel Extract*, *Disodium EDTA*, *Ammonium Hydroxide*.

- Denní hydratační krém s anti-aging efektem a faktorem SPF 30 obsahující 4% *GA*, *Niacinamide*, *Tocopheryl Acetate*, *Aqua*, *Diisopropyl Adipate*, *Cyclotetrasiloxane*, *Isostearic Acid*, *Silica*, *Glyceryl Stearate*, *Magnesium Aluminum Silicate*, *PEG-100 Stearate*, *Cetyl Alcohol*, *Panthenol*, *Titanium Dioxide*, *1,2-Hexanediol*, *Caprylyl Glycol*, *Glycerin*, *Avena Sativa (oat) Kernel Extract*, *Dimethicone*, *Xanthan Gum*, *Decyl Glucoside*, *Disodium EDTA*, *CI 77492*, *Propylene Glycol*, *Ammonium Hydroxide*.

Účinky AHA ve výše uvedených formulacích jsou doplněny aditivními účinky vitaminů. Přesněji vitamínu B3 (*Niacinamide*) pro zlepšení funkce kožní bariéry, vitamínu C (*Ascorbyl Palmitate*) podporujícímu obnovu kůže a omezujícímu tvorbu pigmentací a vitamínu E (*Tocopheryl Acetate*), který je velmi účinným antioxidantem. Zmíněné formulace neobsahovaly potenciální iritanty, jako jsou tradiční konzervační a také komedogenní přísady.

Studii byla provedena na 50 dobrovolnicích s průměrným věkem 42 let. U dobrovolníků byla po sedmi dnech stanovována hloubka vrásek a průměrná drsnost kůže.

- Hloubka vrásek se výrazně snížila po aplikaci anti-agingové péče a to o 16,4 % po 7 dnech používání a pokračovala ve snižování o 24,1 % po 14 dnech a 32,5 % po 21 dnech probíhajícího testování.
- Podobně se snížila i průměrná drsnost kůže a to o 20,9 % po 7 dnech a taktéž pokračovala ve snižování o 33,8 % po 14 dnech a o 42,9 % po 21 dnech. Závěrem provedené studie tedy bylo, že navržená péče o pleť obsahující AHA v kombinaci s vitamíny významně zlepšuje biomechanické parametry kůže, včetně hlubších vrásek a textury kůže.
- Dále měly přípravky pozitivní vliv na elasticitu bez výrazných nepříznivých účinků, a to už po 21 dnech aplikace.

4.4 Antioxidační účinky AHA

Jako antioxidant chápeme molekulu, která je schopna zabránit oxidaci jiných molekul. Význam v kosmetice mají hlavně pro svou schopnost blokovat tvorbu oxidačního poškození volnými radikály. Volné radikály jsou atomy, nebo molekuly s nepárovými elektrony. Tím pádem jsou tyto látky chemicky reaktivnější. Snaha dosáhnout maximální stability vede k reakci, kdy volný radikál přijímá elektron a tvoří elektronový pár, donor elektronu se stává volným radikálem. Nastává řetězová reakce, během které dochází

k poškození buněčných proteinů, lipidů, membrán a DNA. Nejběžnějšími volnými radikály v organismu jsou deriváty kyslíku (superoxidový anion $O_2^{\bullet-}$ a hydroxylový radikál $\bullet OH$). Kromě těchto radikálů jsou v organismu přítomny i další ROS jako peroxid vodíku a chlornanový iont [15, s. 281–282], [23, s. 30].

Antioxidanty chrání buňky před poškozením volnými radikály několika způsoby. Prvním z nich je darování elektronu volnému radikálu, čímž radikál stabilizují a zastaví řetězení reakce. Druhým způsobem je přijetí jednoho nepárového elektronu volným radikálem, ten dále nemůže interagovat s lipidy, bílkovinami a dalšími strukturami. Antioxidant se v případě darování elektronu stává sám volným radikálem, avšak kvůli své struktuře je mnohem méně reaktivní. Někdy také nastane situace, že je radikál antioxidantu enzymaticky navrácen do původní formy [15, s. 282].

Antioxidační účinky u AHA se projevují převážně u kyseliny, které ve své molekule obsahují jednu hydroxylovou skupinu a dvě, nebo více vicinálních karboxylových skupin. Mezi takové kyseliny patří *MA*, *CA*, *TA* [15, s. 329].

Antioxidační vlastnosti se stanovují podle různých zkušebních metod, mezi které patří např. zpomalení oxidace vzduchem anthralinu, kdy čerstvý roztok nebo emulze je žlutá a vzduchem oxidovaná forma je hnědá až černá. Další látkou, která může být testována, je hydrochinon. Jeho roztok je v čerstvém stavu bezbarvý nebo bílý a vzduchem oxidovaná forma je hnědá. K testování lze také použít i banánovou slupku. Jako kontrolní antioxidanty jsou v testech použity vitamín C a E. Potenciál antioxidantu lze měřit pomocí kyslíkové radikálové absorpční kapacity (ORAC). Metoda je založena na oxidační destrukci Fluoresceinu, který je smíchán s producentem volných radikálů, který generuje peroxylové a hydroxylové radikály. Míru antioxidačního potenciálu (ORAC skóre) získáme tak, že porovnáme fluorescenci u směsi fluoresceinu a volných radikálů a u směsi s antioxidantem a volným radikálem [15, s. 282, 329].

Kyseliny vinná a citronová se často chovají podobně jako EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina) a její soli. Tyto látky mají samy o sobě malou antioxidační aktivitu, ale zvyšují účinnost jiných antioxidantů reakcí s ionty těžkých kovů. Nazýváme je chelatační činidla. Ty bývají často užívány v kosmetických přípravcích, aby zabráňovaly změně barvy produktu a stabilizovaly složky citlivé na oxidaci. Ve formulacích najdeme tyto chelatační činidla společně s antioxidanty v procentuálním zastoupení od 0,5 %. Kyseliny s antioxidačními respektive chelatačními účinky také

podporují bariérové funkce SC. To vede ke zvýšení odolnosti vůči iritantům kůže, jako je *Sodium Lauryl Sulfate (SLS)* [6, s. 86], [21, s. 675], [23, s. 51].

4.5 AHA jako regulátory pH

Hodnota pH je měřítkem koncentrace H^+ iontů přítomných na povrchu kůže. Běžné pH kůže u zdravého jedince je 4,5 až 5,5. V kůži jsou přítomny především lipidy, z nichž mají některé amfifilní charakter (volné MK). Tyto kyseliny uvolňují do přidané vody na povrchu kůže své H^+ ionty a pH kůže je určeno jejich disociací ve vodě. Je důležité brát ohled na přirozené pH kůže při formulaci kosmetických přípravků. K úpravě pH se běžně využívají právě AHA především pak CA. Koncentrace AHA v přípravku bývá velmi malá, většinou od 0,02 % do 0,2 %. Acidita přípravku se upravuje většinou na mírně kyselou (pH 4–5) [20, s. 9–22], [32, s. 84].

4.6 Antibakteriální účinky kyseliny mandlové

Zejména u kožních onemocnění je *Staphylococcus aureus (S. aureus)* častým zástupcem bakterie, která způsobuje zánětlivá ložiska na pokožce a zhoršuje její kvalitu. Jedná se o gram-pozitivní bakterii. Kyselina mandlová má díky své chemické struktuře antibakteriální účinky, které byly prokázány ve studii [33, s. 925–928] při testech na dvou typech kmenů: *S. aureus*, *methicillin-resistant S. aureus (MRSA)*, což je typ zlatého stafylokoka, který je rezistentní vůči antibiotikům s obsahem účinné látky methicillinu (polysyntetický derivát penicilinu). Rovněž, bylo zahrnuto 19 klinických izolátů MRSA, získaných z různých vzorků (sputum, krev, absces). Jako živná půda byl použit Müller-Hintonův agar. Zkoumání citlivosti *MaA* (koncentrace 20–160 mg/ml) na izoláty *S. aureus* bylo provedeno diskovou difuzní metodou a metodou mikrodiluce vývaru.

Testování antibakteriálních účinků se v praxi provádí kvalitativními a kvantitativními testy citlivosti. Kvalitativní testy slouží pro rychlou indikaci citlivosti. Hodnotíme pouze dva faktory, a to vnímavost či resistenci. Takovým testem je právě disková difuzní metoda, kdy se na povrchu Petriho misky na vhodné živné půdě naočkuje rovnoměrně mikroorganismus. Následně jsou na misku kladeny disky (papírky napuštěny antibakteriální látkou o různých koncentracích), které během inkubace difundují antibakteriální látku na agar. Účinnost se prokáže průzračnou zónou kolem disku. Rychlost difuze závisí na typu živné půdy, proto se v klinické praxi používá Müller-Hintonův agar, který umožňuje dobrou difuzi a srovnání jednotlivých výsledků mezi sebou [34].

Kvantitativní testy určují minimální množství antibakteriální látky, které je potřebné k zastavení růstu mikroorganismu. Toto množství nám udává hodnota MIC (Minimal Inhibitory Concentration). Ve výše uvedené studii [33, s. 925–926] udává hodnota MIC nejnižší koncentraci, která vedla k významnému snížení růstu o > 90 %. Také lze stanovit minimální baktericidní koncentraci MBC (Minimal Bactericidal Concentration), která určuje minimální množství látky potřebné k usmrcení mikroorganismu. Relevantní jsou hodnoty, kdy přežilo pouze 0–1 % původního inokula. Tyto kvantitativní testy jsou stanovovány diluční (ředicí) metodou, jako je výše uvedená metoda mikrodiluce vývaru [34].

Výsledky studie, hodnoty MIC:

- Nejvíce izolátů bylo citlivých na *MaA* v koncentraci 80 až 160 mg/ml.
- Pět z devatenácti izolátů bylo citlivých i na *MaA* v koncentraci 40 mg/ml.
- Citlivost nebyla pozorována při nižších koncentracích *MaA*.

Hodnoty MBC:

- Snížení počtu bakterií bylo pozorováno už u koncentrací 20 a 40 mg/ml. Toto zjištění ukazuje, že *MaA* lze považovat za látku, která dokáže lokálně zabránit tvorbě bakterií a tím kladně ovlivnit hojení kůže a podporu hojení bakteriálních kožních infekcí.

Kyselina mandlová a její deriváty (oxyacetyl *MaA*, oxi-propionyl *MaA*) byly Stanem [35, s. 578–580] testovány na antibakteriální účinky (na gram-pozitivní i gram-negativní bakterie), dále i protiplísňové účinky v souvislosti s možným využitím těchto látek jako konzervačních v mastích. Konzervační vlastnosti se považovaly za dostatečné, pokud ve stavu testu nedošlo k žádnému zvýšení mikroorganismů v inokulovaném přípravku. Výsledkem studie bylo zjištění, že deriváty vykazují dobrou antibakteriální a protiplísňovou aktivitu v nižších koncentracích.

V testech na zjištění účinnosti látek jako konzervačních činidel byly provedeny dvě zkoušky s kontrolními vzorky. V prvním testu byly přípravky s konzervační látkou a bez konzervační látky nechány stát po dobu 14 dní a sledoval se u nich nárůst mikroorganismů v přípravku. U přípravku, který neobsahoval konzervační látku (deriváty *MaA*) došlo k nárůstu počtu mikroorganismů.

Druhý spočíval v záměrné inokulaci přípravku obsahující konzervační látky, kdy se sledoval opět nárůst počtu bakterií. Přípravky zakonzervované deriváty *MaA* neobsahovaly větší množství mikroorganismů ani po 14 dnech od inokulace. Tyto výsledky prokazují antibakteriální účinky *MaA* a jejich derivátů, které mohou být v kosmetických přípravcích využity jako konzervační látky.

Na průkaz antibakteriálních účinků *MaA* byla také provedena dlouhodobá studie [36, 26–28], kdy byly připraveny gely (pro čištění kůže) a lotiony (ošetření po očištění) s koncentrací *MaA* 2 % a 10 %. Tyto formulace byly doplněny o antioxidanty (vitamin C, E, A a D3) a filtr UV s SPF 15. Formulace byly poskytnuty 1 100 ženám s problematickou pletí (pigmentace, *acne vulgaris*, vrásky, melasma), které si přípravky aplikovaly dvakrát denně. Dále byl u žen prováděn chemický peeling (*MaA* o koncentraci 30 % a 50 %). Peeling byl aplikován jednou za dva až tři týdny, a poté byl omyt vodou a pokožka byla následně neutralizována a ošetřena steroidním roztokem. Cílem celé studie bylo připravit dobrovolníky k ošetření pleti laserem a sledovat jak celá příprava, která zahrnovala *MaA*, ovlivnila průběh ošetření a následné hojení po zákroku. Kůže byla ošetřena laserem nejdříve 4 týdny po první aplikaci připravených přípravků. Byla sledována reakce kůže na jednotlivé produkty, progres u problematické kůže jako bylo *acne vulgaris*, vrásky či pigmentace. Reakce kůže na laserové ošetření a výsledný stav kůže po ošetření lze shrnout následovně:

- Zlepšení nastalo u kůže s jemnými vráskami, kdy byl 10% přípravek obsahující *MaA* aplikován 2x denně. Na rozdíl od klasických přípravků na bázi AHA obsahujících *GA* byla kůže ošetřená *MaA* méně podrážděná a nevykazovala známky zánětu.
- Nejvýraznější zlepšení nastalo u žen s aknézní pletí, díky potlačení tvorby gram-negativních bakterií. Topické aplikace přípravků měla pozitivní účinek i u dobrovolnic, kterým byly v minulosti aplikovány antibiotické preparáty a bakterie způsobující akné byly označeny za resistantní na tento typ přípravků.

Dobrovolníci, kteří splňovali kritéria vhodná pro ošetření laserem, museli minimálně po dobu 4 týdnů před ošetřením používat přípravky s *MaA*. Zároveň ale po tuto dobu kůže nebyla ošetřena chemickým peelingem s obsahem *MaA*.

- Nejvýznamnějším výsledkem používání *MaA* před a po ošetření pleti laserem (laser byl aplikován společně s povrchovým chemickým peelingem na bázi *MaA*),

bylo snížení výskytu gram-negativních infekcí. Tyto infekce se u ošetření laserem bez použití antibakteriálních činidel běžně vyskytují a způsobují začervenání, zánět a celkově ztěžují ošetření a péči o pleť v následujících týdnech po ošetření. Výsledkem tedy bylo, že dobrovolníci neměli takové problémy s péčí o pleť, kůže se rychleji hojila a navrátila se do optimálního stavu.

Výsledky výše uvedených studií prokazují antibakteriální působení *MaA* jak na gram-pozitivní tak na gram-negativní bakterie, čehož lze využít, jak pro zlepšení stavu u klientů s problémy jako je *acne vulgaris*, pigmentace, vrásky, tak i pro bezpečné ošetření pleti laserem. Dále se u *MaA* prokázala konzervační účinnost využitelná u kosmetických přípravků.

5 BEZPEČNOST POUŽITÍ AHA V KOSMETICE

Téma bezpečnosti použití AHA v kosmetice koresponduje s bezpečným použitím AHA v dermatologii. Zejména u chemických peelingu se jedná o hraniční přípravek, který nelze jednoznačně definovat jako kosmetický přípravek, nebo přípravek určený pro lékařské ošetření. Bezpečnost použití a specifikace koncentrací AHA v kosmetických přípravcích není dosud uvedena v legislativě, a to ani v zákonu č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví [37], ani v nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích [38]. Avšak platí, že pokud použijeme v přípravku AHA a označíme ho jako kosmetický, musí splňovat všechna kritéria a bezpečnostní nařízení, které jsou ve výše uvedených legislativách uvedena. Kosmetické ošetření takovým přípravkem nesmí negativně ovlivňovat stav kůže a musí vždy působit pouze v místě aplikace. Dále se nemůže jednat o léčivo, ani tomuto přípravku nemohou být připisovány léčivé účinky. Jak vyplývá z definice kosmetického přípravku v článku 2 nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích: *„kosmetickým přípravkem je jakákoli látka nebo směs určená pro styk s vnějšími částmi lidského těla (pokožkou, vlasovým systémem, nehty, rty, vnějšími pohlavními orgány) nebo se zuby a sliznicemi ústní dutiny, výhradně nebo převážně za účelem jejich čištění, parfemace, změny jejich vzhledu, jejich ochrany, jejich udržování v dobrém stavu nebo úpravy tělesných pachů“*.

V obecném pojetí jsou přípravky s koncentrací AHA až do 10 % považovány za bezpečné a vhodné pro každodenní použití „laikem“. Výrobky v rozsahu koncentrací AHA od 10 % do 70% a o pH 2 a nižší jsou určena pouze k profesionálnímu použití zkušeným odborníkem. Pokud se tyto přípravky aplikují dle doporučení dermatologa, jsou i přípravky s vysokými koncentracemi AHA považovány za spíše bezpečné. Dále by přípravky obsahující AHA měly obsahovat UV filtr přímo ve formulaci, nebo by mělo být na obalu spotřebitelům doporučeno po použití takového přípravku použít ochranu před sluncem. Také by mělo na obalu být upozornění, že není vhodné přípravek ve zvýšené míře používat v letních měsících [6, s. 87–88], [10, s. 490].

5.1 Bezpečnost použití chemických peelingů

U chemických peelingů není zákonem stanovena konkrétní koncentrace určena zvláště kosmetičkám a zvláště lékařům. Ošetření chemickým peelingem nemůže provádět nikdo bez proškolení lékařem dermatologem. Platí zde zásada, že s AHA by měl pracovat pouze informovaný specialista. Běžně se uvádí základní dělení chemických peelingů do tří skupin na povrchový, středně hluboký a hluboký peeling. V kosmetických salónech se všeobecně setkáme pouze s povrchovým peelingem, kdy maximální doporučená koncentrace AHA pro chemický peeling v kosmetickém salónu je do 35 %. Tento typ peelingu jde pouze do hloubky k papilární vrstvě šráry. Délka hojení kůže po zákroku je 3–5 dní [39, s. 14–18].

Peeling je v salónu zakázáno používat u klientek těhotných, kojících, trpících autoimunitní chorobou (zvláště pak kolagenózy), pokud klientka trpí častými infekcemi herpes simplex virem, při léčbě ozařováním, po spálení pokožky sluncem či návštěvě solária. Dále u klientek, které mají od ošetření nereálná očekávání a jsou emočně nestabilní. Aplikace jako taková by pak měla být vždy konzultována s lékařem dermatologem. Pomoci může hlavně v případě seboroické či atopické dermatitidy, *acne vulgaris* či u stárnoucí pokožky s projevem vrásek [40, s. 161].

Klientům by mělo být vždy doporučeno používání UV filtru po ošetření chemickým peelingem. Samotné ošetření by nemělo probíhat v letních měsících, protože právě vysoké koncentrace AHA mohou způsobovat zvýšenou citlivost na UV záření [6, s. 87–88].

ZÁVĚR

Alfa-hydroxykyseliny patří z chemického hlediska mezi karboxylové kyseliny. Podle struktury je lze systematicky rozdělit do tří základních skupin a to na alkylové, arylalkylové a polykarboxylové kyseliny. Nejčastěji užívanou skupinou v kosmetice jsou alkylové kyseliny, do kterých řadíme *GA* a *LA*. Jsou to kyseliny s nejmenší molekulovou hmotností, dobře rozpustné ve vodě, které díky relativně malé molekule dobře pronikají do vrstev *epidermis*. Specifickou skupinou jsou arylalkylové kyseliny, kam zařazujeme *MaA*, která je svou molekulou i vlastnostmi naprosto odlišná od ostatních AHA. Kyselina mandlová ve své molekule obsahuje na α -uhlíku hydroxylovou i fenylovou skupinu, což jí propůjčuje unikátní vlastnosti. Je často alternativní a šetrnější variantou *GA*. Má mnohem vyšší molekulovou hmotnost a proto neproniká tak hluboko do pleti. Jako jediné z AHA jí byly také prokázány antibakteriální vlastnosti, čehož se využívá v medicíně ale i v kosmetice při ošetření pleti, kde není žádoucí zvýšený výskyt bakterií. Třetí a poslední skupina polykarboxylových kyselin, do kterých řadíme *MA*, *TA* a *CA*, je považována z hlediska využití v kosmetice za minoritní skupinu. Nicméně i tak, nalezneme případy, kdy jsou dané kyseliny vhodným řešením např. v kombinaci se šetrnějšími AHA v chemickém peelingu, či pro úpravu pH kosmetických přípravků.

Účinnost jednotlivých AHA lze stanovit na základě hodnoty pK_a v porovnání s pH konečného kosmetického přípravku. Pokud je hodnota pK_a blízká pH přípravku, uplatňují se u AHA keratolytické účinky. Naopak pokud se pracuje s přípravky, kdy je pH výrazně vyšší než pK_a AHA, pak se uplatňují především účinky humektační. Exfoliace a hydratace pokožky patří mezi nejčastěji využívané rejuvenační techniky v kosmetologické praxi.

Exfoliace pomocí AHA je hojně využívána hlavně při ošetření chemickým peelinglem. Humektační účinky jsou založeny na zcela odlišném mechanismu – osmózy uplatňované při formulaci hydratačních krémů a ostatních přípravků určených k hydrataci.

Problematika určení zda se u AHA jedná o fototoxické či fotoprotektivní látky je velmi obtížná. Existují studie, které varují před vystavování kůže ošetřené chemickým peelinglem UVB záření z důvodu negativní fototoxické odezvy. Naopak byly provedeny i studie, které tvrzení o fototoxicitě AHA vyvracejí a jejichž výsledky prokázaly, že v nízkých koncentracích se AHA aplikovaná na pokožku chová fotoprotektivně. Těchto poznatků lze využít k formulaci fotoprotektivních přípravků.

Kombinací všech tří zmíněných účinků, tedy exfoliace, hydratace, a fotoprotektivity, jsou AHA velmi vhodnými a účinnými látkami s anti-aging efektem.

Neméně důležitými vlastnostmi AHA je antioxidační aktivita, schopnost adjustovat pH přípravků a u *MaA* také antibakteriální vlastnosti.

Kosmetické přípravky s AHA musí splňovat všechna kritéria a bezpečnostní nařízení, která jsou uvedena v platných legislativách pro ČR. Jak již vyplývá z výše uvedených informací o fototoxicitě, přípravky obsahující AHA by měly obsahovat UV filtr přímo ve formulaci, nebo by mělo být na obalu spotřebitelům doporučeno po použití takového přípravku použít ochranu před sluncem. Legislativa taktéž neošetřuje přesné instrukce pro použití přípravků s AHA v kosmetických salónech. Platí zde zásada, že s AHA by měl pracovat pouze informovaný specialista. Maximální doporučená koncentrace AHA pro chemický peeling používaný v kosmetickém salónu je do 35%.

Práce byla zaměřena na problematiku pouze teoreticky. Do budoucna se zde nabízí možnost ověřit si nabyté znalosti měřením a testováním jednotlivých účinků AHA například formulováním inovativních přípravků s dalšími aktivními látkami.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. RAMOS-E-SILVA, M. Hydroxy acids and retinoids in cosmetics. *Clinics in dermatology* [online]. 2001, **19**, 460-466 [cit. 2019-11-04]. ISSN 1879-1131. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X01001894?via%3Dihub>
2. VAN SCOTT, E. J. a R. J. YU. Hyperkeratinization, corneocyte cohesion, and alpha hydroxy acids. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online] 1984, **11**(5), 867-879 [cit. 2019-11-04]. ISSN 01909622. Dostupné z:
3. CRISSEY, J. T., L. Ch. PARISH a K. HOLUBAR. *Historical atlas of dermatology and dermatologists* [online]. Boca Raton, Parthenon Publications Group, 2002 [cit. 2019-11-04]. ISBN 18-421-4100-7 (elektronická verze). Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=7ThZDwAAQBAJ&pg=PA173&redir_esc=y&hl=cs#v=onepage&q=archibald%20gray&f=false
4. TANG, S-Ch., J-H. YANG. Dual Effects of Alpha-Hydroxy Acids on the Skin. *Molecules* [online]. 2018, **23**(863) [cit. 2019-11-04]. DOI: 10.3390. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/4/863>
5. TRAN, D., J. TOWNLEY, T. BARNES a K. GREIVE. An antiaging skin care system containing alpha hydroxy acids and vitamins improves the biomechanical parameters of facial skin. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* [online]. 2015. **8**, 9-17 [cit. 2019-11-04]. ISSN 1178-7015. Dostupné z: <https://www.dovepress.com/an-antiaging-skin-care-system-containing-alpha-hydroxy-acids-and-vitam-peer-reviewed-article-CCID>
6. SIVAMANI, R. K., J. R. JAGDEO, P. ELSNER a H. I. MAIBACH. *Cosmeceuticals and active cosmetics* [online]. Third edition. Boca Raton, 2016 [cit. 2019-11-23]. ISBN 978-1-4822-1417-8 (elektronická verze). Dostupné z: <https://rudiapt.files.wordpress.com/2017/11/cosmeceuticals-and-active-cosmetics-3rd-ed-2016.pdf>
7. BHALLA T. C., V. KUMAR, S. K. BHATIA. *Advances in Industrial Biotechnology* [online]. I. K. international publishing house pvt ltd. 2014, str. 56-76. Kapitola 4. Hydroxy Acids: Production and Applications [cit. 2019-11-

- 23]. ISBN 9789382332763. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3047947/>
8. NEČAS, E. *Obecná patologická fyziologie*. Praha: Karolinum, 2009, s. 113-117. Kapitola 6.3. Poškození buňky a smrt buňky. ISBN 978-80-246-1688-9.
9. VARARAT, S., C. AROMDEE a Y. PODOKMAI. Determination of alpha hydroxyacids in fruits by capillary electrophoresis. *Analytical science* [online]. 2002, **18**(8), 893-896 [cit. 2019-11-22]. ISSN 0910-6340. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/browse/analsci/18/8/_contents/-char/en
10. BABILAS, P., U. KNIE a Ch. ABELS. Cosmetic and dermatologic use of alpha hydroxy acids. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* [online]. 2012, **10**(7), 488-491 [cit. 2019-11-24]. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2012.07939.x. ISSN 16100379. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1610-0387.2012.07939.x>
11. KREJČÍ, J. *Kosmetika a kosmetologie* [online]. FT, UTB, s. 45–49 [cit. 2020-04-14]. Kapitola 1.2.3 Hydroxykyseliny. Dostupné z: <http://kosmetika.ft.utb.cz/>
12. EBMEYER F., H. Haberlein, JT. Haberlein. *Process for preparing a particularly pure glycolic acid* [online,] Haberlein MC & Mohn H, 1998 [cit. 2019-11-24], US Patent No. 5723662. Dostupné z: <https://patents.google.com/patent/US5723662A/en>
13. MOHIUDDIN, A. *Skin Aging & Modern Age Anti-Aging Strategies* [online]. Peernest.org, 2019 [cit. 2019-12-06]. ISBN 978-1-946628-23-7. Dostupné z: <https://peernest.org/ebooks/Skin-Aging-Modern-Age-Anti-Aging-Strategies.pdf>
14. KONTO CHRISTOPOULOS, G., E. PLATSIDAKI. Chemical peels in active acne and acne scars. *Clinics in dermatology* [online]. 2017, **35**, 179-182 [cit. 2019-12-06]. ISSN 1879-1131. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X16302723?via%3Dihub>
15. GREEN, B. A., E. J. VAN SCOTT. Clinical uses of hydroxyacids. In: DRAELOS, Z. K. *Cosmetic dermatology: products and procedures* [online]. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell Pub., 2010. s. 327-334 [cit. 2019-12-13]. ISBN 978-140-5186-353 (elektronická verze). Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118655566.ch38>

16. PÁSKOVÁ, R. Ovocné kyseliny a jejich účinky na pleť. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2014, **8**(4), 157-160 [cit. 2019-12-14]. ISSN 1803-5337. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2014/04/09.pdf>
17. KIM, S. W., S. E. MOON. Glycolic acid peels versus Jessner's solutions: Which is better for facial acne patients? A randomized prospective clinical trial of split-face model therapy. *Dermatol Surgery* [online]. 1999, **25**, 270-273 [cit. 2019-12-14]. ISSN 1524-4725. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10417580>
18. PURI N. Efficacy of modified Jessner's peel and 20% TCA versus 20% TCA peel alone for the treatment of acne scars. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery* [online]. 2015, **8**, 42-45 [cit. 2019-12-14]. ISSN 0974-5157. Dostupné z: <http://www.jcasonline.com/article.asp?issn=0974-2077;year=2015;volume=8;issue=1;spage=42;epage=45;aulast=Puri>
19. ALAM, M. a M. PONGPRUTTHIPAN. *Body rejuvenation*. New York: Springer, 2010, s. 39–45. Kapitola 6. Treatment of Poikiloderma with Chemical Peeling. ISBN 978-1-4419-1092-9.
20. MOHIUDDIN, A. K. Skin Care Creams: Formulation and Use. *Pharmaceutical Sciences and Analytical Research Journal* [online]. 2019, **2**(2), 1-32 [cit. 2020-02-26]. ISSN 2640-6659. Dostupné z: <https://escipub.com/Articles/AJODRR/AJODRR-2019-03-2001.pdf>
21. LODEN, M. The clinical benefit of moisturizers. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2005, **19**(6), 672-688 [cit. 2019-12-17]. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2005.01326.x. ISSN 0926-9959. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1468-3083.2005.01326.x>
22. GREEN, B. A. Cosmeceutical Uses and Benefits of Alpha, Poly and Bionic Hydroxy Acids. In: FARRIS, P. K. *Cosmeceuticals and cosmetic practice* [online]. Chichester, West Sussex, UK, 2014, s. 69–79 [cit. 2020-02-26]. ISBN 978-1-118-38479-4. Dostupné z: <https://download.e-bookshelf.de/download/0004/0695/49/L-G-0004069549-0002628989.pdf>
23. VILAPLANA, J. a J. COLL. Clinical and non-invasive evaluation of 12% ammonium lactate emulsion for the treatment of dry skin in atopic and non-atopic subjects. *Acta Dermato- Venereologica* [online]. 1992, **72**(1), 28-33 [cit.

- 2020-03-06]. ISSN 1651-2057. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1350137>
24. CHANG. *Alpha hydroxy acid sustained release formulation* [online]. US Patent No. 8,715,700 B2, 2014 [cit. 2020-03-07]. Dostupné z:
<https://patents.google.com/patent/US8715700>
25. AL-BAWAB, A. a S. E. FRIBERG. Amphiphilic association structures in a model skin lotion with hydroxy acids. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2004, **26**, 139–147 [cit. 2020-03-07]. ISSN 1468-2494. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1467-2494.2004.00212.x>
26. KIM, K., H. PARK a K-M. LIM. Phototoxicity: Its Mechanism and Animal Alternative Test Methods. *Toxicological Research* [online]. 2015, **31**(2), 97-104 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.5487/TR.2015.31.2.097. ISSN 1976-8257. Dostupné z:
http://www.toxicolres.org/journal/list.html?pn=search&s_t=Phototoxicity%3A+Its+Mechanism+and+Animal+Alternative+Test+Methods&s_a=&s_k=&s_v=&s_n=&x=24&y=11
27. AHN, K. S., K. S. PARK, K. M. JUNG. Inhibitory effect of glycolic acid on ultraviolet B-induced c-fos expression, AP-1 activation and p53–p21 response in a human keratinocyte cell line. *Cancer Letters* [online]. 2002, **186**(2), 125-135 [cit. 2020-03-06]. DOI: 10.1016/S0304-3835(02)00283-5. ISSN 03043835. Dostupné z:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383502002835?via%3Dihub>
28. TANG, S-Ch., P-Y. LIAO, S-J. HUNG, J-S. GE, S-M. CHEN, J-Ch. LAI, Y-P. HSIAO a J-H. YANG. Topical application of glycolic acid suppresses the UVB induced IL-6, IL-8, MCP-1 and COX-2 inflammation by modulating NF-κB signaling pathway in keratinocytes and mice skin. *Journal of Dermatological Science* [online]. 2017, **86**(3), 238-248 [cit. 2020-02-15]. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2017.03.004. ISSN 0923-1811. Dostupné z:
[https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(16\)30915-X/fulltext](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(16)30915-X/fulltext)
29. The Scientific Committee on Cosmetis Products and Non-Food Products Intended for Consumers: Consumers Safety of Alpha-Hydroxy Acids [online].

- 2004, 1–10 [cit. 2020-03-07]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out284_en.pdf
30. CLARYS, P., A. BAREL. New Trends in Antiaging Cosmetic Ingredients and Treatments. MAIBACH, Howard, ed. *Handbook of Cosmetic Science and Technology, Third Edition* [online]. CRC Press, 2009 [cit. 2020-03-07]. DOI: 10.1201/b15273-28. ISBN 978-1-4200-6963-1 (elektronická verze). Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1524-4725.2009.01444.x>
31. TRAN, D. a J. P. TOWNLEY. An antiaging skin care system containing alpha hydroxy acids and vitamins improves the biomechanical parameters of facial skin. *Clinical, Cosmetics and Investigational Dermatology* [online]. 2015, **8**, 9-17 [cit. 2020-03-08]. ISSN 1178-7015. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4277239/>
32. AGACHE, P. a P. HUMBERT. *Measuring the Skin* [online]. Berlin: Springer-Verlag, 2004 [cit. 2020-04-15]. ISBN 3-540-01771-2. Dostupné z: https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=APiLX8aBakkC&oi=fnd&pg=PA84&dq=acidity+of+the+skin&ots=0kpOzUfIKB&sig=sPuDTiPp5GID56PQ8z5WHFfwGsE&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
33. MOTAMEDIFAR, M. a A. BAZARGANI. Antimicrobial Activity of Mandelic Acid Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: a Novel Finding with Important Practical Implications. *World Applied Sciences Journal* [online]. IDOSI Publications, 2014, **31**(5), 925-929 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2014.31.05.2011. ISSN 1818-4952. Dostupné z: <https://scholar.google.com>
34. BUŇKOVÁ, L. *Vliv vnějších podmínek na mikroorganismy. Antibakteriální účinky antibiotik*. [online]. Zlín: FT, UTB, Obecná mikrobiologie – laboratorní cvičení, 2010 [cit. 2020-03-28]. Dostupné od L. Buňkové.
35. STAN, C. D. a A. STEFANACHE. Microbiological evaluation and preservative efficiency of new mandelic acid derivates in ointments. *Farmacia* [online]. 2015, **63**(4), 577-580 [cit. 2020-03-28]. Dostupné z: <https://scholar.google.com>
36. TAYLOR, M. B. Summary of Mandelic Acid for the Improvement of Skin Conditions. *Cosmetic dermatology* [online]. 1999, 26-28 [cit. 2020-03-26].
37. Zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů. In: *Sbírka zákonů ČR* [online]. Částka 74, s. 3622–3662. [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: <https://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/>

38. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. In: *EUR-Lex. Acces to European Union law* [online]. [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02009R1223-20191127>
39. KREJČÍ, J., *Kosmetika a Kosmetologie*, přednáška č. 8 – funkční látky péče o kůži II [online]. Zlín, FT UTB [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <http://kosmetika.ft.utb.cz/>
40. MANSFELDOVÁ, L. Chemický peeling – přehled a využití v korektivní medicíně. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2011, 5(3), 160-162 [cit. 2020-04-16]. ISSN 1803-5337. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/03/11.pdf>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AHA	Alfa-hydroxykyseliny
Apaf-1	Apoptotic Protease Activating Factor 1
BHA	Beta-hydroxykyseliny
CA	<i>Citric Acid</i> , kyselina citronová
COX-2	Cyclooxygenase-2
DISC	Death Inducing Signaling Complex
EDTA	Ethylendiamintetraoctová kyselina
<i>EHMC</i>	<i>Ethylhexyl Methoxycinnamate</i>
FADD	Fas-associated Death Domain
GA	<i>Glicolic Acid</i> , kyselina glykolová
GAG	Glykosaminoglykany
HA	Hydroxykyseliny
HaCaT	Immortalizované lidské keratinocyty
HICA	Alfa-hydroxy isokapronová kyselina
IL-6	Interleukyn-6
IL-8	Interleukyn-8
IR	Infračervené záření
JS	Jessner solution
Ka	Disociační konstanta
LA	<i>Lactic Acid</i> , kyselina mléčná
<i>Laureth 4</i>	Tetraethylenoxid dodecylether
LDL	Lipoproteiny o nízké hustotě
MA	<i>Malic Acid</i> , kyselina jablečná
<i>MaA</i>	<i>Mandelic Acid</i> , kyselina mandlová
MBC	Minimal Bactericidal Concentration, minimální baktericidní koncentrace

MCP-1	Monocyte Chemoattractant protein 1
MED	Minimal Erythema Dose, minimální erytémová dávka
MIC	Minimal Inhibitory Concentration, minimální inhibiční koncentrace
MK	Mastné kyseliny
MRSA	Methicillin resistantní <i>Staphylococcus aureus</i>
NF- κ B	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NHEK	Normal Human Epidermal Keratinocytes
NMF	Natural Moisturizing Factor, přirozený hydratační faktor
O/V	Emulze typu olej ve vodě
ORAC	Kyslíková radikálová absorpční kapacita
PAL	Povrchově aktivní látka
PCA	Pyrolidonkarboxylová kyselina
pK _a	Záporný dekadický logaritmus disociační konstanty
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SA	<i>Salicylic Acid</i> , kyselina salicylová
SBCs	Sun Burn Cells
SC	<i>Stratum Corneum</i>
SLS	<i>Sodium Lauryl Sulfate</i>
SPF	Sun Protection Factor
TA	<i>Tartaric Acid</i> , kyselina vinná
TEWL	Trans epidermální ztráta vody
TNF	Tumor Necrosis Factor
UV	Ultrafialové záření
UVA	Ultrafialové záření alfa
UVB	Ultrafialové záření beta
VIS	Viditelná oblast záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Hydroxykyseliny</i>	9
<i>Obr. 2. Monohydroxykyseliny a polyhydroxykyseliny</i>	10
<i>Obr. 3. Alifatické, aromatické a arylalifatické HA</i>	10
<i>Obr. 4. Chemická syntéza kyseliny glykolové</i>	12
<i>Obr. 5. Syntéza kyseliny mandlové z benzaldehydu</i>	14
<i>Obr. 6. Indukce apoptózy</i>	17
<i>Obr. 7. Fototoxicita</i>	24
<i>Obr. 8. Fotoprotekce</i>	26