

sofw journal

Home & Personal Care Ingredients & Formulations

powered by **SOFW**



Protective Beauty – Umfassender Hautschutz durch Enzyme

S. Christian, V. Krug

Protective Beauty – Umfassender Hautschutz durch Enzyme

S. Christian, V. Krug

abstract

Unsere Haut ist täglich vielen Faktoren ausgesetzt, die vorzeitige Hautalterung begünstigen. Zwei Hauptfaktoren sind dabei zudem eng miteinander verbunden: UV-Strahlung und freie Radikale. Aus der Literatur ist bekannt, dass allein UV-Strahlung für 80 % der sichtbaren Hautalterungserscheinungen im Gesicht verantwortlich ist [1]. Deshalb braucht unsere Haut ein verlässliches Reparatur- und Schutzsystem.

Nach dem Vorbild der Natur sind Enzyme ideale Komponenten für ein solches System, da sie eine hocheffiziente und langanhaltende Wirkung bieten. Der Wirkstoff Glorydermal® GUARD enthält einen synergistisch wirkenden Komplex, hauptsächlich bestehend aus zwei Enzymen: das Reparaturenzym Photolyase, das aus Mikroalgen gewonnen wird, und ein Antioxidansenzym in Form eines Eisenpeptids. Mit Hilfe einer liposomalen Verkapselung wird außerdem eine verbesserte Hautpenetration ermöglicht. Das Reparaturenzym Photolyase repariert UV-bedingte DNA-Schäden, die sog. CPDs (Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere), sehr effizient und schneller als die körpereigenen Reparaturmechanismen, sodass dieses wichtige System unterstützt und damit entlastet werden kann. Das Antioxidansenzym neutralisiert langanhaltend reaktive Sauerstoffspezies (ROS = Reactive Oxygen Species), zu denen auch freie Radikale gehören. Durch Eigenregeneration wird es wie ein Enzym nicht verbraucht und bietet daher einen Langzeitradikalschutz. Wirksamkeitsstudien an humanen 3D-Vollhautmodellen zeigen sowohl die synergistische Langzeitreparatur als auch den Langzeitschutz durch diese beiden Enzyme im Wirkstoff Glorydermal® GUARD, die somit optimale Wirkkomponenten darstellen, um vorzeitiger Hautalterung effektiv entgegenzuwirken.

Einleitung

Hautschutz ist keine Frage des Alters. Unsere Haut ist mit einer Gesamtfläche von etwa zwei Quadratmetern unser größtes Organ, das unseren Körper umschließt und schützt. Dabei ist sie so einzigartig wie vielfältig und begleitet uns ein Leben lang – somit ist sie es auch wert, dass wir sie gut pflegen und schützen (**Abbildung 1**).

In unserem Alltag ist unsere Haut vielen Einflüssen ausgesetzt, die sie schädigen können. Eine dieser Komponenten ist UV-Strahlung. Damit verbunden sind auch freie Radikale, die unsere Haut ebenso beeinträchtigen und schneller altern lassen können. Dabei sind UV-Strahlung und freie Radikale keine Ein-

flüsse, die sich rein auf die Sommermonate reduzieren lassen. Beide begleiten unseren Alltag, mal mehr manchmal weniger, aber auch immer dann, wenn wir sie nicht direkt im Blick haben. Als Hauptursachen für vorzeitige Hautalterung können UV-Strahlung und freie Radikale durch DNA-Schädigungen und Oxidationsprozesse zu Alterungserscheinungen wie z.B. Photoaging und Falten führen.

Der Wirkstoff Glorydermal® GUARD greift diese beiden Einflussfaktoren zentral auf und bietet ein verlässliches Reparatur- und Schutzsystem, das unsere Haut wie ein unsichtbares Schild vor den negativen Auswirkungen von UV-Strahlung und freien Ra-

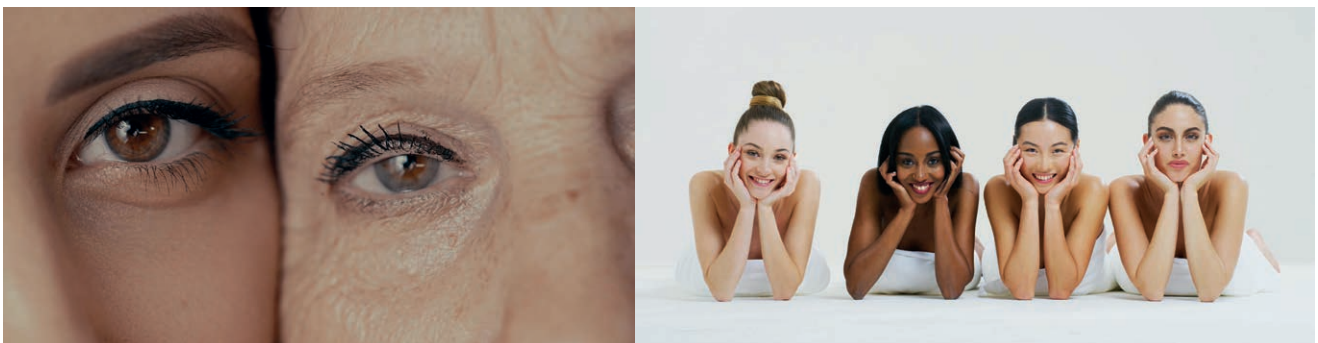


Abb. 1 Unsere Haut ist mehr als nur die Hülle unseres Körpers. Ihre Pflege und ihr Schutz sollten daher essentielle Bestandteile moderner Schönheitskonzepte sein. Diese Grundlage wird durch den Trend Protective Beauty umfassend aufgegriffen.

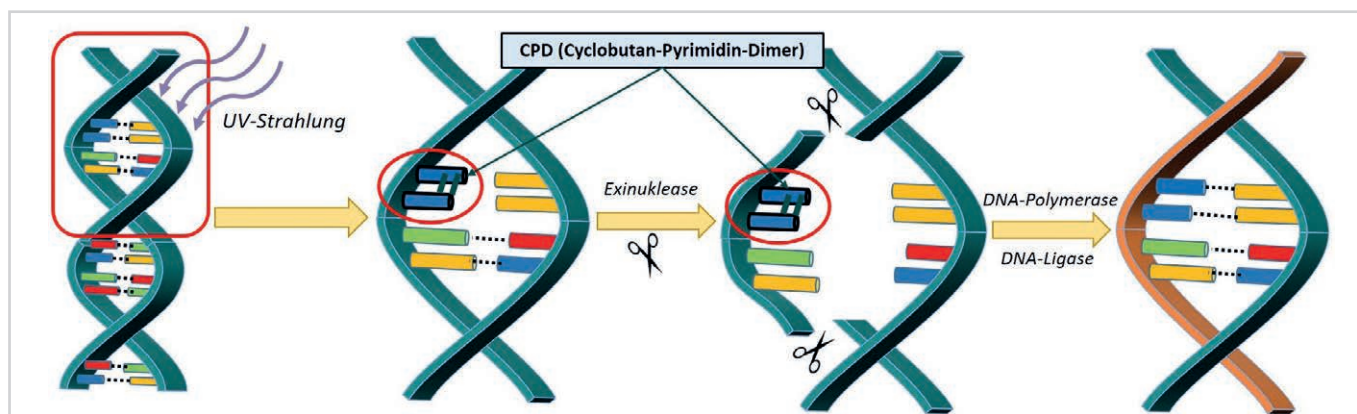


Abb. 2 Humaner körpereigener Reparaturmechanismus UV-geschädigter DNA (Nukleotidexzisionsreparatur) zur Beseitigung von CPDs, skizziert gemäß den Arbeiten von Lindahl et al., die 2015 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet wurden [2]. Reparatur über eine Zwischenstufe, in der die CPDs großzügig abgetrennt werden und der DNA-Strang anschließend neu synthetisiert wird.

dikalen bewahrt. Er repariert UV-geschädigte DNA und neutralisiert freie Radikale synergistisch und langanhaltend.

Enzyme sind die Dirigenten des Lebens – Wirksamkeit nach dem Vorbild der Natur

Die Suche nach geeigneten Wirkkomponenten liefert besonders im Bereich der Neutralisation von freien Radikalen zahlreiche Wirkstoffe, die als Antioxidantien in kosmetischen Produkten eingesetzt werden. Bei der DNA-Reparatur und der Neutralisation von freien Radikalen ist jedoch nicht die Wirksamkeit allein entscheidend, sondern es kommt auch auf Geschwindigkeit und eine langfristige Wirkung an, damit unsere Haut den ganzen Tag effektiv geschützt werden kann.

UV-Strahlung und freie Radikale sind beide sehr bekannte, natürliche Einflüsse uralten Ursprungs. Seit Beginn des Lebens sind Organismen darauf angewiesen, diesen Einflüssen mit wirksamen Reparatur- und Schutzmechanismen zu begegnen, um zu überleben. Enzyme spielen bei diesen Prozessen eine wesentliche Rolle. Sie ermöglichen und beschleunigen viele biochemische Reaktionen und haben wichtige Funktionen im Stoffwechsel der Organismen. Ein entscheidendes Merkmal ist zudem, dass sich Enzyme auch über viele Reaktionszyklen nicht verbrauchen und somit eine besonders schnelle und langanhaltende Wirkung einzigartig kombinieren.

Enzyme bieten daher die optimale Grundlage zur Erfüllung der genannten wichtigen Voraussetzungen für effektiven Hautschutz vor den negativen Auswirkungen von UV-Strahlung und freien Radikalen. Der synergistische Wirkstoffkomplex von Glorydermal® GUARD ist daher hauptsächlich aus zwei Enzymen aufgebaut. Er vereint das DNA-Reparaturenzym Photolyase, das aus Mikroalgen gewonnen wird, mit einem Antioxidansenzym in Form eines Eisenpeptids zur Neutralisation von freien Radikalen. Beide Enzyme sind zudem liposomal verkapselt, um eine verbesserte Hautpenetration zu ermöglichen.

Enzyme können die Reparaturmechanismen unserer Haut sehr effektiv unterstützen. Das Reparaturenzym Photolyase aus Mikroalgen bietet z.B. eine 10 bis 100-fach schnellere Reparatur UV-geschädigter DNA als die körpereigenen hu-

manen Reparaturmechanismen. Der Ursprung dieser hocheffizienten Reparatur liegt in der Entwicklung der Mikroalgen: bereits vor Jahrmilliarden haben sie ein effektives Schutz- und Reparatursystem gegen intensive UV-Strahlung entwickelt, die in dieser Zeitepoche deutlich stärker war als heute, da sie nicht durch eine Atmosphärenschicht gemindert wurde. Diese entwickelte sich erst später im Laufe der Erdgeschichte – die Reparatur- und Schutzmechanismen der Mikroalgen blieben jedoch erhalten, sodass sie heute der Kosmetik zur Verfügung gestellt werden können.

Die häufigste UV-bedingte Läsion der DNA sind die Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere (CPDs), bei denen UV-Strahlung gegenüberliegende Basenpaarungen in der DNA-Doppelhelix trennt und zwei benachbarte Basen desselben Strangs anschließend fälschlicherweise kombinieren. Der humane körpereigene Reparaturmechanismus zur Beseitigung dieser DNA-Baufehler (**Abbildung 2**) führt über eine Zwischenstufe, in der die CPDs mit dem betroffenen Strangsegment großzügig abgetrennt werden. Der komplementäre DNA-Strang wird abschließend neu synthetisiert.

Der körpereigene Reparaturprozess kann mit Hilfe des Reparaturenzyms Photolyase erheblich beschleunigt werden, da die Photolyase den DNA-Schaden ohne Zwischenstufe direkt durch Spaltung der CPD-Bindungen in nur einem Schritt beheben kann (**Abbildung 3**). Die Photolyase wird durch Licht aktiviert und ist besonders im Bereich blauer Strahlung aktiv. Somit kann sie z.B. direkt während eines Sonnenbads genutzt werden, um UV-bedingte Schädigungen der DNA zu reparieren, was jedoch nie die Verwendung eines UV-Filters als primären Sonnenschutz ersetzt. Die Photolyase bietet in Kombination jedoch ein erweitertes Schutzkonzept.

Mit der Kombination des Reparaturenzyms Photolyase und des Antioxidansenzym in Form eines Eisenpeptids, das so konzipiert ist, dass es sich wie ein Enzym ebenfalls über viele Reaktionszyklen hinweg nicht selbst verbraucht, liegt dem Wirkstoff Glorydermal® GUARD eine Paarung kontinuierlich arbeitender Wirkbeschleuniger zu Grunde. So werden Langzeitradikalschutz und hocheffiziente DNA-Reparatur nicht nur ideal vereint, sie zeigen auch eine synergistische Wirkung.

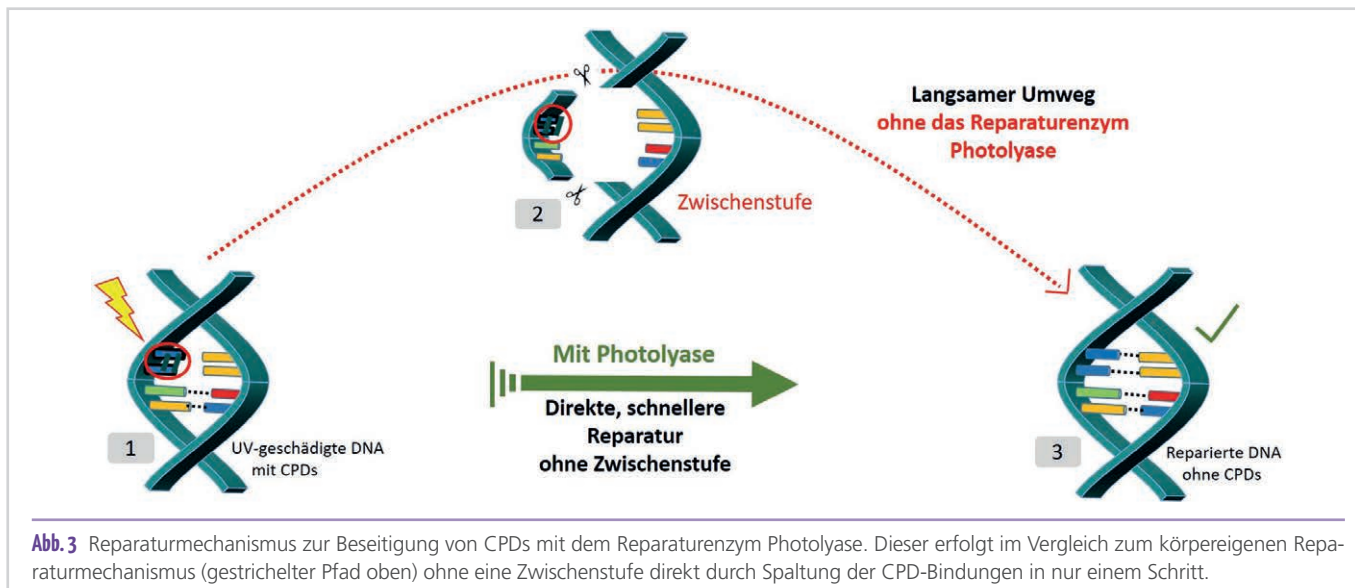


Abb. 3 Reparaturmechanismus zur Beseitigung von CPDs mit dem Reparatorenzym Photolyase. Dieser erfolgt im Vergleich zum körpereigenen Reparaturmechanismus (gestrichelter Pfad oben) ohne eine Zwischenstufe direkt durch Spaltung der CPD-Bindungen in nur einem Schritt.

Methoden und Ergebnisse

Die Wirknachweise der DNA-Reparatur und des Langzeitradikalschutzes wurden in Studien an humanen 3D-Vollhautmodellen (Phenion®-Modelle [3]) erbracht. Da für beide Wirkungen die Haut zunächst geschädigt werden müsste, um sowohl die anschließende Reparatur der DNA als auch die Reduktion von freien Radikalen nachweisen zu können, wurden hierbei aus ethischer Sicht bewusst keine *in vivo* Studien durchgeführt. Die 3D-Vollhautmodelle haben zudem den Vorteil, dass sie sehr robust hinsichtlich der durchführbaren Studiendesigns sind und außerdem eine hohe Reproduzierbarkeit liefern [4]. So konnte der Grad der Schädigung weit ausgereizt werden, um das Potential von Glorydermal®GUARD zu untersuchen. Dies zeigt sich im Speziellen bei den Studien zur Reduktion freier Radikale, bei denen mit wiederholten Applikationen einer Wasserstoffperoxidlösung (H₂O₂) mit einer jeweiligen Einwirkdauer von 1 h gearbeitet werden konnte (**Abbildung 5** und **Abbildung 6**) - ein Design, das bei einer *in vivo* Studie nicht umsetzbar wäre.

Wirksamkeitsstudie CPD-Reduktion

Zur Untersuchung der DNA-Reparatur wurde die Reduktion von UV-induzierten CPDs analysiert. Dazu wurden die humanen 3D-Vollhautmodelle

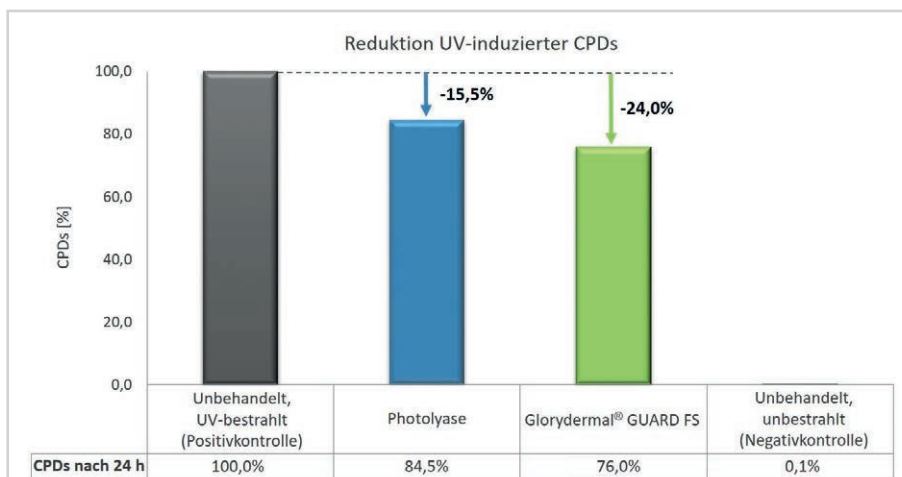


Abb. 4 Studiendesign: Humane 3D-Vollhautmodelle, verwendete Formulierung: wässrige Wirkstofflösung mit 1 % Glorydermal®GUARD FS bzw. nur mit der entsprechenden Photolyasekonzentration. Anschließende Bestrahlung: UVB-Strahlung (220 mJ/cm²), Inkubation für 24h. Unbehandelt, UV-bestrahlt = Positivkontrolle (Normierung auf 100 %, maximaler Stress); unbehandelt, unbestrahlt = Negativkontrolle. Auswertung: CPD ELISA-Assay (epidermale Keratinozyten), %-Angaben in Bezug auf die Positivkontrolle (p<0,01).

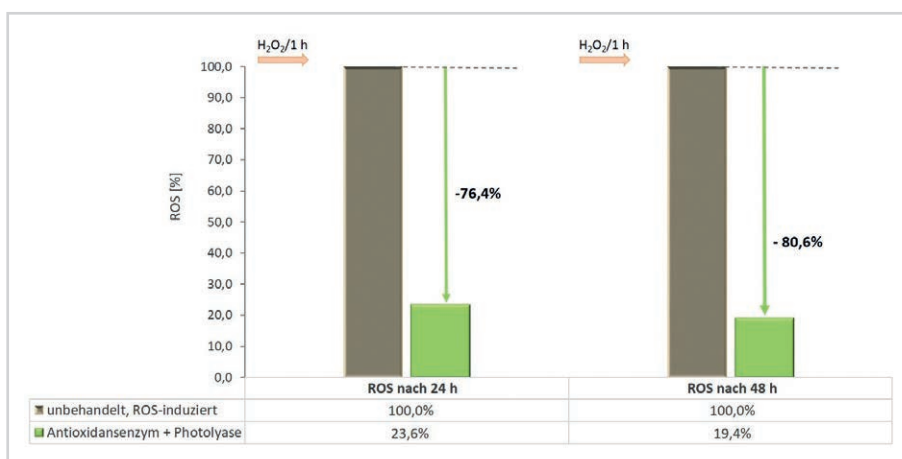


Abb. 5 Studiendesign: Humane 3D-Vollhautmodelle, verwendete Formulierung: wässrige Wirkstofflösung mit 1 % Glorydermal®GUARD FS bzgl. des Antioxidansenzyms. ROS werden jeweils durch H₂O₂-Behandlung induziert (Behandlungsdauer: 1 h). Unbehandelt, ROS-induziert = Positivkontrolle (Normierung auf 100 %, maximaler Stress). %-Angaben in Bezug auf die Positivkontrolle (p<0,0001).

mit einer wässrigen Wirkstofflösung behandelt und anschließend UV-bestrahlt. Die Auswertung erfolgte nach 24h Inkubation gegen Positivkontrolle mittels CPD ELISA-Assay an epidermalen Keratinozyten (**Abbildung 4**). Die Messergebnisse zeigen eine signifikante Reduktion der UV-induzierten CPDs sowie die synergistische Wirkung der beiden Enzyme. Das Antioxidansenzym schützt das Reparaturenzym Photolyase vor oxidativem Abbau, sodass dieses im gleichen Zeitraum mehr CPDs reparieren kann als ohne das Antioxidansenzym. Durch diesen Synergismus kann die bereits sehr effiziente Wirkung der Photolyase weiter gesteigert werden.

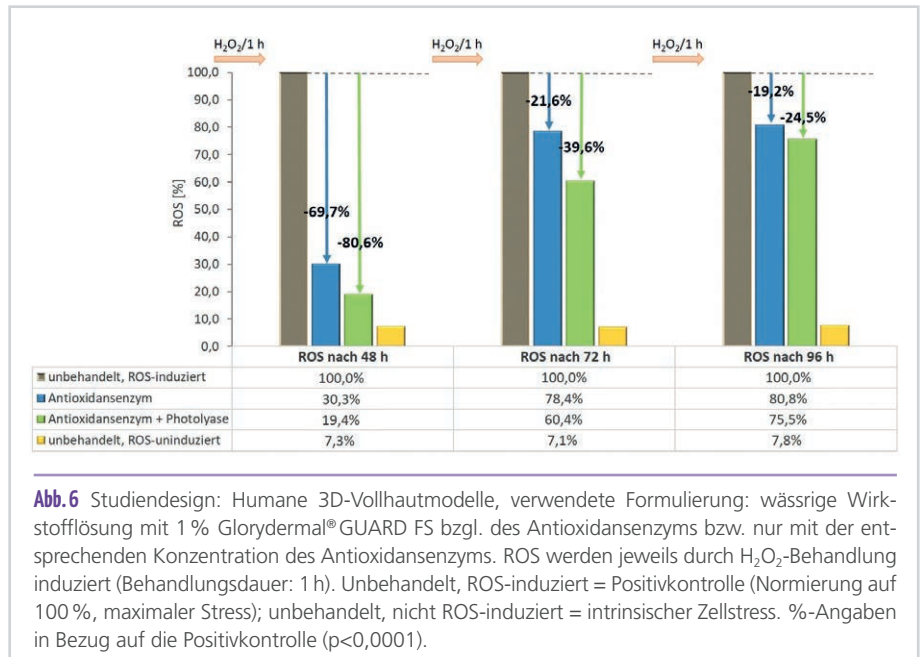
Wirksamkeitsstudie Langzeitradikalschutz

In dieser Studie wurde zur Untersuchung des Langzeitradikalschutzes Wasserstoffperoxidlösung als Initiator zur Erzeugung freier Radikale respektive reaktiver Sauerstoffspezies (ROS = Reactive Oxygen Species) verwendet. Die Vollhautmodelle wurden einmalig mit der Wirkstofflösung und anschließend mit einer Wasserstoffperoxidlösung mit einer Einwirkdauer von 1 h behandelt. Die Behandlung mit Wasserstoffperoxid wurde alle 24h mit frischer Lösung über einen Untersuchungszeitraum von 96h wiederholt. Innerhalb von 24h nach Auftrag der Wirkstofflösung und Erstbehandlung mit Wasserstoffperoxidlösung konnten ROS um über 76 % und nach 48h und erfolgter Zweitbehandlung mit frischer Wasserstoffperoxidlösung sogar um gut 80 % reduziert werden (**Abbildung 5**).

Die Reduktion von ROS ist selbst nach 72 und 96h entsprechend signifikant nachweisbar, wobei der Grad der Reduktion mit der Zeit abnimmt, da das Antioxidansenzym in der Haut im Laufe dieses langen Zeitraums abgebaut wird (**Abbildung 6**). Wie auch in der Studie zur CPD-Reduktion konnte eine synergistische Wirkung des Reparaturenzyms Photolyase mit dem Antioxidationsenzym nachgewiesen werden, die in gleicher Abbildung gezeigt ist. Dieser beidseitige Synergismus stellt einen erheblichen Performancevorteil gegenüber den einzelnen Enzymen dar. Die jeweiligen Enzymkonzentrationen in Glorydermal® GUARD sind zudem hinsichtlich dieser synergistischen Wirkungen optimal aufeinander abgestimmt.

Diskussion

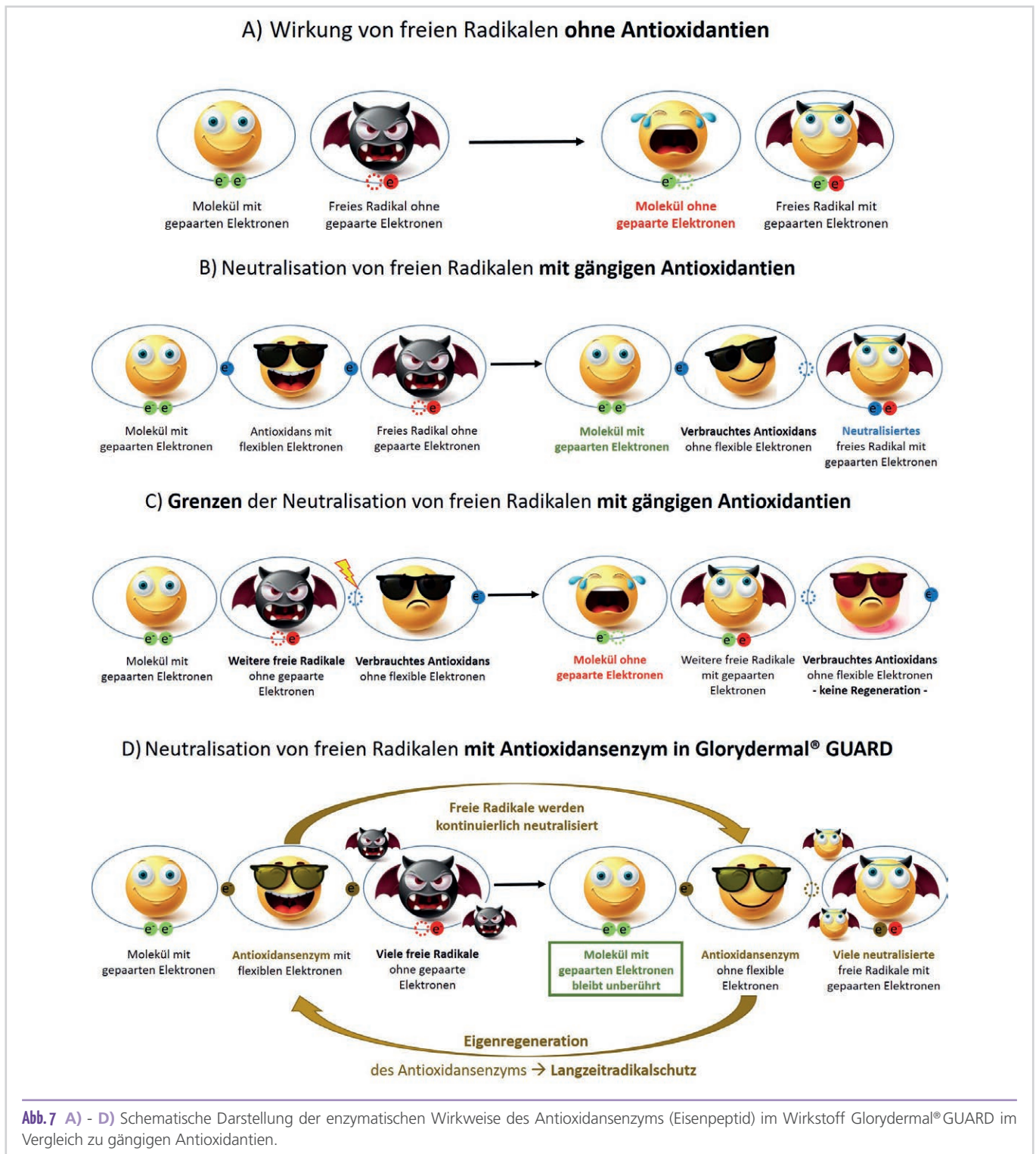
Wie die beschriebenen Studien zeigen, stellen das Reparaturenzym Photolyase und das Antioxidansenzym (Eisenpeptid) kontinuierlich agierende Partner dar und bieten damit die direkte Antwort auf UV-Strahlung und freie Radikale, die als zentrale Hauptursachen für vorzeitige Hautalterung ebenfalls in engem Zusammenhang stehen. Die nachgewiesene



synergistische Langzeitreparatur UV-geschädigter DNA und der ebenfalls synergistische Langzeitradikalschutz basieren auf der enzymatischen Wirkweise, dass sich Enzyme in ihrer Wirkung selbst nicht verbrauchen. Sie werden nach erfolgter Wirkung regeneriert und stehen damit einem weiteren Reaktionszyklus zur Verfügung. Auf dieser Grundlage wurde das Antioxidansenzym entwickelt, das im Gegensatz zum Reparaturenzym Photolyase eine synthetische Komponente ist. Die über einen sehr langen Zeitraum nachgewiesene Reduktion von ROS belegt die enzymatische Wirkweise des Eisenpeptids. Im Gegensatz zu gängigen Antioxidantien, die nach erfolgter Wirkung, d.h. nach Neutralisation von freien Radikalen, inaktiv werden, kann das Antioxidansenzym durch Eigenregeneration mehrere Reaktionszyklen durchlaufen bis es durch hautphysiologische Stoffwechselprozesse natürlich abgebaut wird. Gleiches gilt für das Reparaturenzym Photolyase. Dieser Vorteil der enzymatischen Wirkweise kann besonders gut anhand des Antioxidansenzyms im Vergleich zu gängigen Antioxidantien verdeutlicht werden (**Abbildung 7**).

Bei der Wirkung von freien Radikalen handelt es sich vereinfacht beschrieben um das Streben nach gepaarten Elektronen. Im Gegensatz zu Molekülen mit gepaarten Elektronen weisen freie Radikale ungepaarte Elektronen auf. Diese Elektronenlücke gleichen sie durch die Entnahme von Elektronen bei anderen Molekülen aus, die beispielsweise Bestandteile von Hautzellen sein können. Dadurch entsteht bei diesen Molekülen wiederum eine Elektronenlücke, die einer Schädigung entspricht (**Abbildung 7 A**).

Antioxidantien besitzen flexible Elektronen, die sie an freie Radikale abgeben können, um sie zu neutralisieren. Die entstandene Elektronenlücke können Antioxidantien z.B. durch ihre Struktur gut ausbalancieren. Sie sind in diesem Zustand jedoch verbraucht und können keine weiteren Elektronen mehr an freie Radikale zur Neutralisation abgeben. Im Gegenzug bleibt das andere Molekül unversehrt und es entsteht kein Schaden beispielsweise an Bestandteilen von Hautzellen (**Abbildung 7 B**).



Da verbrauchte Antioxidantien aufgrund bereits abgegebener Elektronen keine weiteren freien Radikale neutralisieren können, ist ihre Schutzwirkung temporär begrenzt. Das bedeutet, dass wie im Fall ohne Antioxidantien Schäden an Zellbestandteilen entstehen können, die das verbrauchte Antioxidans nicht abwehren kann (**Abbildung 7 C**).

Das Antioxidansenzym in Glorydermal® GUARD setzt genau bei diesem Punkt an: es neutralisiert freie Radikale wie gewöhnliche Antioxidantien, ist jedoch anschließend in der Lage, sich selbst zu regenerieren. Wie ein Enzym verbraucht es sich somit nicht selbst und kann daher viele weitere freie

Radikale kontinuierlich neutralisieren. Durch diesen Langzeitradikalschutz bleiben Hautzellbestandteile langfristig vor oxidativer Schädigung geschützt (**Abbildung 7 D**).

Das Eisen im Zentrum des Antioxidansenzym durchläuft dabei chemisch nicht die für Eisen üblichen Oxidationsstufen +II/+III sondern +III/+IV. Der Wirkmechanismus entspricht dem einer natürlichen Peroxidase (**Abbildung 8**).

Durch diesen holistischen Ansatz ist der Wirkstoff Glorydermal® GUARD für ein breites Spektrum kosmetischer Formulierungen einsetzbar, von Tagespflege über Körperpflege bis hin zu Sonnenschutz und After Sun Produkten.

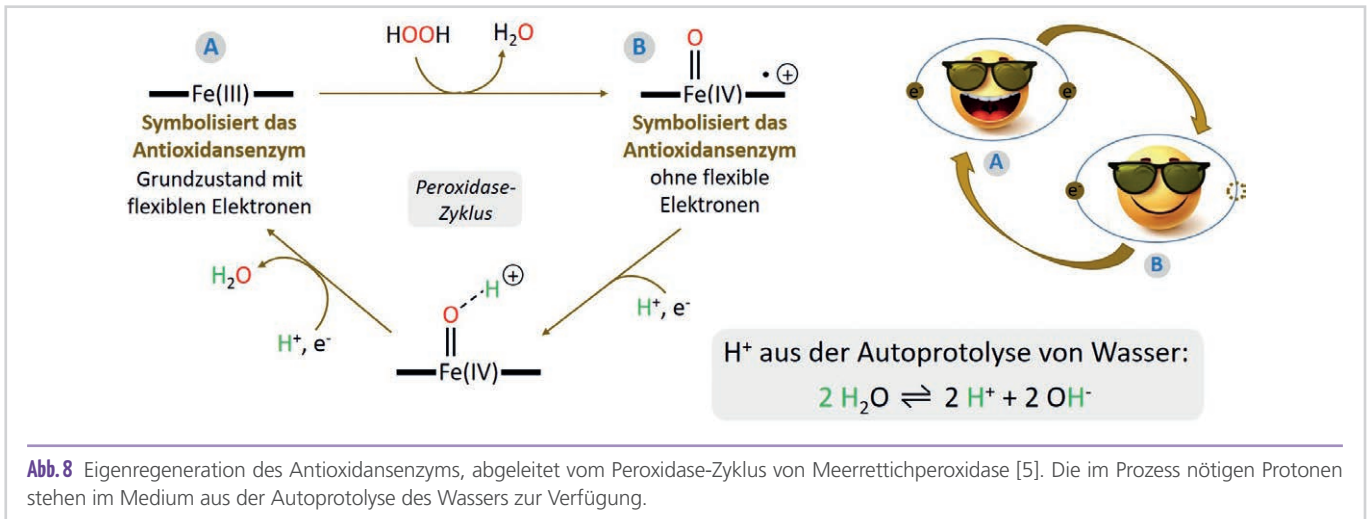


Abb. 8 Eigenregeneration des Antioxidansenzym, abgeleitet vom Peroxidase-Zyklus von Meerrettichperoxidase [5]. Die im Prozess nötigen Protonen stehen im Medium aus der Autoprotolyse des Wassers zur Verfügung.

Ausblick

Die Wirknachweise, die sowohl die Reparatur UV-geschädigter DNA als auch die Reduktion freier Radikale/ROS direkt belegen, wurden aus beschriebenen Gründen über humane 3D-Vollhautmodelle und bewusst nicht über *in vivo* Studien erbracht. Letztere sind jedoch aktuell dennoch zum Nachweis der daraus resultierenden Wirkungen wie z.B. Faltentiefenreduktion und Feuchtigkeitserhalt in der Durchführung, um den bereits vorgelegten Konzeptnachweis abzurunden.

Schlussfolgerung

Vorzeitige Hautalterung ist in erster Linie auf zwei Faktoren zurückzuführen, die eng miteinander zusammenhängen, nämlich UV-Strahlung und freie Radikale. Bei der Suche nach geeigneten Wirkkomponenten waren Geschwindigkeit und eine langfristige Wirkung essentielle Voraussetzungen, um eine effiziente Reparatur UV-geschädigter DNA und Neutralisation von freien Radikalen zu gewährleisten. Nach dem Vorbild der Natur wurden zur Erfüllung dieser beiden wichtigen Voraussetzungen daher Enzyme für den Wirkstoff Glorydermal® GUARD gewählt. Das Reparaturenzym Photolyase aus Mikroalgen zur Reparatur UV-geschädigter DNA (Reduktion von UV-induzierten CPDs) in Kombination mit einem Antioxidansenzym (Eisenpeptid) bildet in liposomaler Verkapselung hauptsächlich den synergistischen Wirkkomplex von Glorydermal® GUARD. Dieser bietet nachweislich einen umfassenden Hautschutz, der die Haut wie ein unsichtbares Schild als verlässlicher Beschützer vor den negativen Auswirkungen von UV-Strahlung und freien Radikalen bewahrt. Aufgrund der enzymatischen Wirkweise ist zudem eine Langzeitwirkung durch eine kontinuierliche Reparatur von DNA-Schäden und lang anhaltende Neutralisation von ROS (Reaktive Sauerstoffspezies, freie Radikale) möglich, die die Wirkdauer von gängigen Antioxidantien erheblich

übertrifft. Eine einfache Einarbeitung in der Wirkstoffphase am Ende der Herstellung ermöglicht zudem eine unkomplizierte Handhabung des Wirkstoffs bei der Herstellung kosmetischer Formulierungen, wie Tagespflege, Körperpflege, Sonnenschutz und After Sun Produkte.

Der aktuell populäre Trend Protective Beauty könnte mit Wirkstoffen wie Glorydermal® GUARD sogar mehr als ein Trend werden. Es könnte der Beginn eines neuen, holistischen Pflegekonzepts für unsere Haut sein – denn Trends sind vergänglich, die Pflege und der Schutz unserer Haut werden jedoch bleiben.

Referenzen:

- [1] *Plament, F., et al.*, Effect of the sun on visible clinical signs of aging in Caucasian skin, *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 2013, 6, 221-232.
- [2] *Lindahl, T., et al.*, The 2015 Nobel Prize in Chemistry The Discovery of Essential Mechanisms that Repair DNA Damage, *Journal of the Association of Genetic Technologists* 2016, 42(1), 37-41.
- [3] *Mewes, K. R., et al.*, Reconstructed 3D Tissues for Efficacy and Safety Testing of Cosmetic Ingredients, *IFSCC Magazine* 2017, 20 (2), 55-64.
- [4] *Reisinger, K., et al.*, Validation of the 3D Skin Comet assay using full thickness skin models: Transferability and reproducibility, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2018, 827, 27-41.
- [5] *Berglund, G., et al.*, The catalytic pathway of horseradish peroxidase at high resolution, *Nature* 2002, 417, 463-468.

Autoren

Dr. Sandra Christian | Member of the Board
Dr. Volker Krug | Managing Director

GloryActives GmbH | Am Prüfsee 46 | 21514 Güster | Deutschland
www.gloryactives.de
www.glorydermal.com

Korrespondenzautor:
Dr. Sandra Christian | dr.s.christian@gloryactives.de