

Izolacija, sinteza i važnost nekih aktivnih sastojaka u kremama

Rušnjak, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:950644>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

Ema Rušnjak
0058219648

**IZOLACIJA, SINTEZA I VAŽNOST NEKIH AKTIVNIH SASTOJAKA U KREMAMA
ZAVRŠNI RAD**

Predmet: Organska kemija

Mentor: izv. prof. dr. sc. Monika Kovačević

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju
Laboratorij za opću i anorgansku kemiju i elektroanalizu

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Izolacija, sinteza i važnost nekih aktivnih sastojaka u kremama
Ema Rušnjak, 0058219648

Sažetak:

Kozmetička industrija i njezino tržište stalno rastu i prilagođavaju se potrebama potrošača koji žele sigurne i učinkovite proizvode.

U tu svrhu kozmetička industrija koristi aktivne sastojke s višenamjenskim svojstvima (antioksidansi, anti-age, foto-zaštitni, protuupalni, antimikrobni, ...). Međutim, ti su spojevi općenito osjetljivi na različite vanjske čimbenike kao što su svjetlost, temperatura, kisik i pH, što može dovesti do njihove degradacije. Stoga se kontinuirano provode istraživanja kako bi se razvila inovativna rješenja za zaštitu ovih aktivnih sastojaka i održavanje njihove učinkovitosti. Aktivni sastojci poput retinola, vitamina C, niacinamida, hijaluronske kiseline i salicilne kiseline imaju važnu ulogu u proizvodima za njegu kože zbog svojih višenamjenskih svojstava. Svaki od tih spojeva ima posebnu kemijsku strukturu i svojstva koja utječu na njihovu primjenu.

U ovom će se radu detaljno proučiti kemijska struktura, biološka aktivnost, izolacija i sinteza svakog od navedenih spojeva, kao i njihova primjena u proizvodima koji se koriste za njegu kože. Cilj je ovog rada dati pregled dostupne literature o izolaciji, sintezi i važnosti ovih aktivnih sastojaka.

Ključne riječi: retinol, vitamin C, hijaluronska kiselina, niacinamid, salicilna kiselina

Rad sadrži: 26 stranica, 14 slika, 46 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: izv. prof. dr. sc. Monika Kovačević

Datum obrane: 10. rujna 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Chemistry and Biochemistry
Laboratory for General and Inorganic Chemistry and Electroanalysis

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Isolation, synthesis and importance of certain active ingredients in creams

Ema Rušnjak, 0058219648

Abstract:

The cosmetics industry market is constantly growing and adapting to the needs of consumers who want safe and effective products.

To this end, the cosmetics industry uses active ingredients with multiple properties (antioxidants, anti-ageing, photoprotective, anti-inflammatory, antimicrobial, etc). However, these compounds are generally sensitive to various external factors such as light, temperature, oxygen and pH, which can lead to their degradation. Therefore, research is ongoing to develop innovative solutions to protect these active ingredients and maintain their effectiveness. Active ingredients such as retinol, vitamin C, niacinamide, hyaluronic acid and salicylic acid play an important role in skin care products due to their versatile properties. Each of these compounds has a specific chemical structure and properties that influence their application.

In this thesis, the chemical structure, biological activity, isolation and synthesis of each of the compounds mentioned and their applications in skin care products will be examined in detail. The aim of this thesis is to provide an overview of the available literature on the isolation, synthesis and significance of these active ingredients.

Keywords: retinol, vitamin C, hyaluronic acid, niacinamide, salicylic acid

Thesis contains: 26 pages, 14 figures, 46 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Ph. D. Monika Kovačević, Associate Professor

Thesis defended: September 10, 2024

Sadržaj

1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO	2
2.1. RETINOL.....	2
2.1.1. STRUKTURA I AKTIVNOST.....	2
2.1.2. IZOLACIJA.....	3
2.1.3. SINTEZA.....	3
2.1.4. PRIMJENA	5
2.2. NIACINAMID.....	6
2.2.1. STRUKTURA I AKTIVNOST.....	6
2.2.2. IZOLACIJA.....	7
2.2.3. SINTEZA.....	7
2.2.4. PRIMJENA	8
2.3. VITAMIN C	9
2.3.1. STRUKTURA I AKTIVNOST.....	9
2.3.2. IZOLACIJA.....	11
2.3.3. SINTEZA.....	11
2.3.4. PRIMJENA	13
2.4. HIJALURONSKA KISELINA.....	14
2.4.1. STRUKTURA I AKTIVNOST.....	14
2.4.2. IZOLACIJA.....	15

2.4.3. SINTEZA.....	16
2.4.4. PRIMJENA	17
2.5. SALICILNA KISELINA.....	17
2.5.1. STRUKTURA I AKTIVNOST.....	17
2.5.2. IZOLACIJA.....	18
2.5.3. SINTEZA.....	19
2.5.4. PRIMJENA	20
2.ZAKLJUČCI	22
3.POPIS LITERATURE	23

1. UVOD

Kozmetička industrija predstavlja ogromno međunarodno tržište vrijedno više milijardi dolara, a istraživači na tom području razvijaju principe održivog razvoja kako bi odgovorili na trenutne društvene, ekonomske i ekološke izazove. Rastom svijesti potrošača o vlastitom zdravlju, dolazi do njihove potražnje za učinkovitim, ali u isto vrijeme sigurnim kozmetičkim proizvodima. Također, zahvaljujući napretku metoda izolacije, strukturne analize i mogućnosti sinteze, kao i znanja o djelotvornosti pojedinih sastojaka, moguće je formulirati proizvod u skladu s očekivanjem potrošača, budući da posljednjih godina zahtijevaju sve učinkovitiju kozmetiku koja će odgovoriti na njihove specifične potrebe.

Među raznim kozmetičkim proizvodima (njega kože, njega kose, šminka, parfemi, higijena), njega kože bila je najvažnije kozmetičko tržište u 2023. prema godišnjem izvješću l'Oreala za 2023. (L'Oreal, 2024) Potrošači traže proizvode koji mogu zaštititi njihovu kožu te joj dati mlađi i ljepši izgled. U tu svrhu kozmetička industrija koristi aktivne sastojke s višenamjenskim svojstvima (antioksidansi, anti-age, foto-zaštitni, protuupalni, antimikrobni, ...). Međutim, ti su spojevi općenito osjetljivi na različite vanjske čimbenike kao što su svjetlost, temperatura, kisik i pH, što može dovesti do njihove degradacije. Stoga se kontinuirano provode istraživanja kako bi se razvila inovativna rješenja za zaštitu ovih aktivnih sastojaka i održavanje njihove učinkovitosti najprije tijekom skladištenja i kroz faze formulacije, proizvodnje, distribucije pa do primjene i upotrebe od strane potrošača.

Količina aktivnih komponenti koju pojedinac koristi mora se regulirati zbog njihovog kumulativnog učinka iz različitih proizvoda. Zato je 1976. godine osnovana neprofitna organizacija The Cosmetic Ingredient Review (CIR) koja prati, pregledava i procjenjuje sigurnost individualnih sastojaka koji se koriste u kozmetičkim proizvodima na nepristran i stručan način te objavljuje rezultate u recenziranim znanstvenim časopisima. Osim toga, danas su dostupne brojne aplikacije koje omogućavaju brzo informiranje i analizu pojedinog proizvoda.

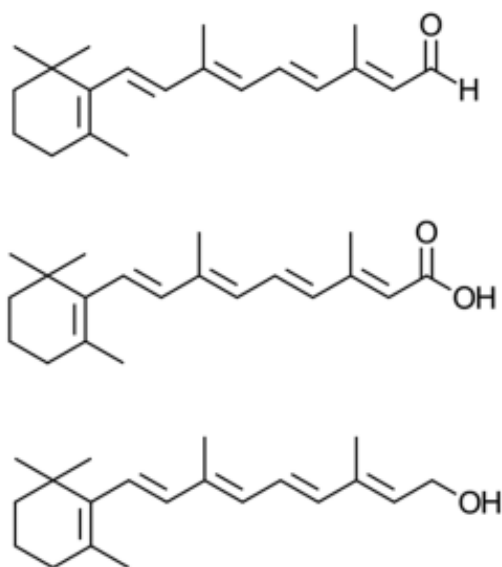
U ovom Završnom radu pružen je pregled literature o strukturi, aktivnosti, izolaciji i sintezi nekih od najviše korištenih aktivnih komponenti u kozmetičkim proizvodima – retinol, niacinamid, vitamin C, hijaluronska kiselina i salicilna kiselina.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. RETINOL

2.1.1. Struktura i aktivnost

Retinol (vitamin A) kemijski je spoj koji se sastoji od β -jononskog prstena, polienskog bočnog lanca i polarne skupine na kraju tog lanca. (Polcz i Barbul, 2019) Njegovu kemijsku strukturu prvi je opisao nobelovac Paul Karrer između 1929. i 1931. godine. (Parker i sur., 2016) Ovakva kemijska struktura čini ga osjetljivim na UV zračenje i oksidaciju, no također ga čini podložnim interakciji s proteinima i metaboličkoj interkonverziji. Retinol je prekursor svih ostalih prirodnih retinoida. (Vahlquist, 1999) Retinoidi su svi prirodni i sintetski spojevi koji strukturno nalikuju retinolu, uključujući i one derivate koji nisu biološki aktivni. Glavni biološki aktivni oblici vitamina A su retinol, retinal i retinoinska kiselina koji sadrže hidroksilnu, aldehidnu, odnosno karboksilnu skupinu na kraju polienskog lanca (slika 1).



Slika 1. Kemijska struktura retinala, retinoinske kiseline i retinola (Polcz i Barbul, 2019)

Retinol je ključna komponenta za pravilno provođenje mnogobrojnih bioloških funkcija, uključujući reprodukciju, razvoj embrija, diferencijaciju stanica, staničnu mitozu, održavanje stanica štitnjače, metabolizam joda, imunitet, vid, te regulaciju ekspresije brojnih gena. (Polcz i Barbul, 2019; Zinder i sur., 2019) Također ima značajnu ulogu u zdravlju kože tako što održava zdravlje epitelnih stanica na površini kože i sluznica, održava cjelovitost sluznice i epitela, te potiče stvaranje glikoproteina, proteoglikana i kolagena te umrežavanje

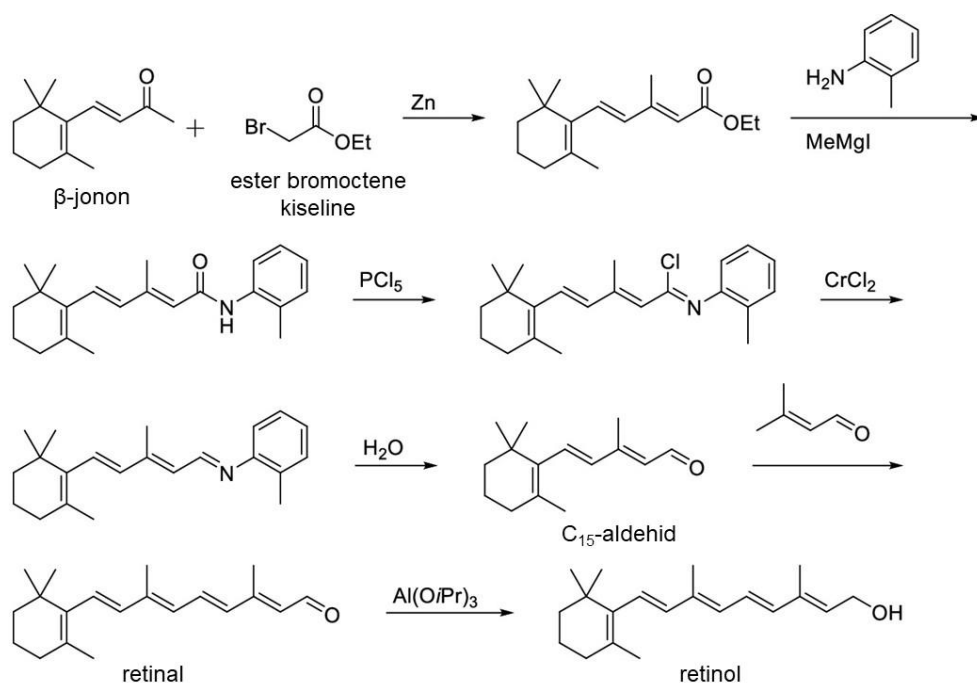
новоformiranog kolagena. (Zinder i sur., 2019) Iako do danas nije u cijelosti razjašnjen mehanizam samog djelovanja vitamina A na kožu, prirodni i sintetski retinoidi se koriste za liječenje brojnih kožnih poremećaja poput psorijaze, akni i fotooštećenja kože. (Polcz i Barbul, 2019)

2.1.2. Izolacija

Iako je postojanje vitamina A dokazano još 1913. godine, postupak izolacije istog nije bio u potpunosti razjašnjen sve do 1937. godine. Prvi zabilježeni pokušaj izolacije objavili su znanstvenici Takahashi i Kawakami 1923. godine koristeći ulje jetre bakalara kao sirovinu. Dobili su proizvod koji su nazivali „sirovim biostearinom“. Godine 1925. Takahashi i suradnici dodatno su koncentrirali sirovi biostearin metodama ekstrakcije otapalima različitih polarnosti i vakuum destilacije tvrdeći da su izolirali čisti vitamin A, no to su kasnije opovrgnuli Drummond, Channon i Coward. Oni su destilirali neosapunjivu frakciju ulja jetre bakalara (iz koje je prethodno uklonjen kolesterol) i otkrili da je vitamin A destilirao pri 180-220 °C, no taj je destilat sadržavao mnogobrojne nečistoće. (Holmes i Corbet, 1937) Vjerojatno se prva uspješna izolacija dogodila tek 1931. kada su Karrer, Morf i Schöpp iz ulja jetre skuše dobili optički inaktivan alkohol molekulske formule $C_{20}H_{30}O$ ili $C_{22}H_{32}O$ i molekulske mase 300-320 g/mol. Isti produkt dobio je Drummond, u suradnji s Heilbronom i Mortonom, izolacijom iz ulja jetre iverka metodom frakcijske destilacije. Tada nisu mogli dokazati da je dobiven proizvod čisti vitamin A, no činilo se vrlo vjerojatno da je 90% čisti vitamin A molekulske formule $C_{20}H_{30}O$. 1937. je prvi puta izoliran vitamin A u kristaliničnom obliku, također iz ribljih ulja, metodama saponifikacije i ekstrakcije, filtracije, zamrzivanja te rekristalizacije, što je objavljeno u časopisu Nature kao izvanredna vijest. Dobiveni su svjetložuti kristali koji mogu biti u obliku iglica ili ruže i vidljivi golim okom te imaju temperaturu tališta 7,5-8,0 °C i molekulsku masu 294 g/mol. (Holmes i Corbet, 1937)

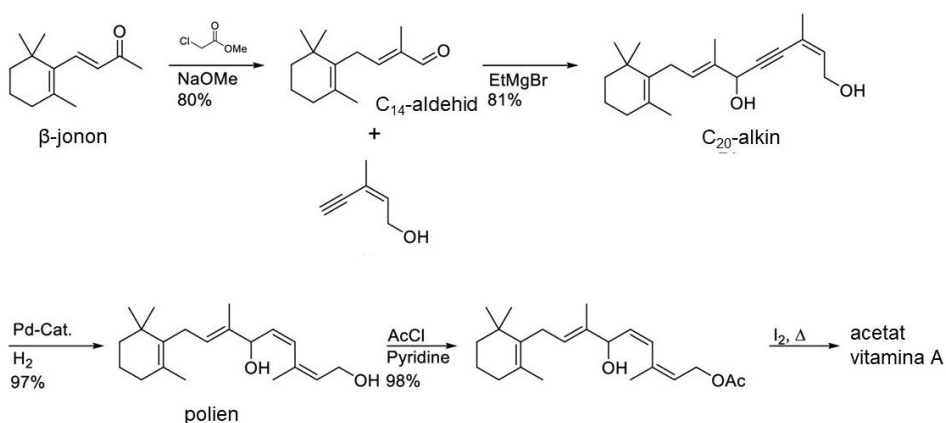
2.1.3. Sinteza

Razjašnjavanje strukture vitamina A 1930.-ih godina omogućilo je daljnje istraživanje i utvrđivanje njegove sinteze koja je započela u narednim godinama. Prvo izvješće o uspješnoj pripravi vitamina A objavili su Kuhn i Morris 1937. godine (slika 2). Sinteza je započela od β -jononskog prstena, koji je u reakciji s esterom bromoctene kiseline rezultirao molekulom od 15 C atoma koja je kroz nekoliko koraka sinteze prevedena u C_{15} -aldehid, ključni međuprodukt u ovom slijedu reakcija. Aldolna kondenzacija s 3-metilbut-2-enalom u prisutnosti piperidina i octene kiseline rezultirala je retinalom, koji se mogao reducirati Meerwein-Ponndorf-Verley redukcijom u vitamin A. Konačan proizvod imao je iskorištenje reakcije od 7,5 % (prinos nije naveden) i nisu uočene razlike u odnosu na vitamin A koji je izoliran iz ribljih ulja.



Slika 2. Tijek prve poznate sinteze retinola (Bonrath i sur., 2023)

Drugi znanstvenici koji su također istraživali vitamin A nisu uspjeli reproducirati sintezu koju su proveli Kuhn i Morris. Trebalo je još devet godina do iduće uspješne sinteze vitamina A. Isleru je prvi put dopušteno raditi na sintezi vitamina A 1945. godine u Rocheu. Razmatrao je dvije strategije: cijepanje većih karotenoidnih molekula od 40 ugljikovih atoma ili spajanje manjih gradivnih jedinica, na što se na posljetku odlučio i usredotočio. U svega nekoliko mjeseci postignuta je sinteza metil-etera vitamina A na laboratorijskoj razini jer se tada vjerovalo da eteri i esteri vitamina A imaju biološku aktivnost sličnu onoj vitamina A te da su stabilniji. Na temelju stečenog znanja tijekom sinteze metil-etera vitamina A, Isler i sur. koristili su analognu sekvencu za pripremu acetata vitamina A čijom su hidrolizom dobili čisti vitamin A, tj. retinol, koji je spektroskopski bio identičan vitaminu A izoliranom iz ribljeg ulja (slika 3).



Slika 3. Islerova sinteza acetata vitamina A (Bonrath i sur., 2023)

Industrijska sinteza vitamina A, koja je započela 1948. godine, podrazumijevala je pripremu iz koncentriranog sintetskog acetata naspram ekstraktu ribljeg ulja zbog većeg prinosa, stabilnosti, lakšeg pročišćavanja, niže cijene i ponovljive kvalitete dobivenog vitamina A. Potražnja je nastavila rasti, tako su drugi proizvođači poput BASF-a i Rhône-Poulenca plasirali svoje proizvode na tržište. Tijekom godina razvijala se i poboljšavala sinteza, te je danas vrlo učinkovita i koristi mali broj početnih materijala. β -jonon se trenutno proizvodi iz acetona i etina, te 12 ugljikovih atoma retinola potječe iz acetona, 6 iz etina, a preostala 2 iz formaldehida i Darzensovog reagensa, što znači da 20 od 22 ugljikova atoma korištenih u sintezi završava u konačnom proizvodu. (Bonrath i sur., 2023)

2.1.4. Primjena

Retinol ili vitamin A koristi se u kozmetičkim proizvodima bez recepta od 1984. godine (Rolewski, 2003) i za njega je poznato da poboljšava teksturu kože, vlažnost, izgled bora i depigmentaciju. Koncentracija retinola u kozmetičkim proizvodima kreće se između 0,0015 % i 0,3 %. U slučaju lokalne primjene retinola dolazi do njegovog prodiranja u vanjski sloj epiderme čime veze između epidermalnih stanica čini labavijima te olakšava keratozu. Također potiče obnovu epiderme i ubrzava proliferaciju bazalnog sloja epidermalnih stanica te rožnatog sloja. Osim toga, potiče fibroblaste na sintezu kolagenskih vlakana (potiče aktivnost fibroblasta i povećava njihov broj) i poboljšava elastičnost kože tako što uklanja degenerirana vlakna elastina. (Zasada i Budzisz, 2019) Njegov puni potencijal u liječenju fotostarenja uočen je kada je dokazano da primjena retinola na ljudsku kožu izaziva debljanje epidermisa, slično kao i retinoinska kiselina te da retinol uzrokuje znatno manji transepidermalni gubitak vode, eritem i ljuskanje od retinoinske kiseline. Pokazano je da retinol inhibira UV indukciju matriks metaloproteinaza (MMP) i potiče sintezu kolagena u fotooštećenoj koži. Međutim, ustanovljeno je da je retinol 20 puta manje potentan od retinoinske kiseline (poznate pod nazivom tretinoid) i da zahtijeva daljnju pretvorbu u retinoinsku kiselinu kako bi pokazao svoje djelovanje. (Mukherjee i sur., 2006) Retinol se pretvara u retinoinsku kiselinu dvostupanjskom oksidacijom nakon ulaska u stanicu; prvo se oksidacijom kataliziranom retinol dehidrogenazom ili alkohol dehidrogenazom pretvara u retinal, a zatim se pomoću retinaldehid dehidrogenaze dobije retinoinska kiselina koja je prirodni ligand nuklearnih retinoidnih receptora i odražava aktivnost vitamina A. (Zasada i Budzisz, 2019)

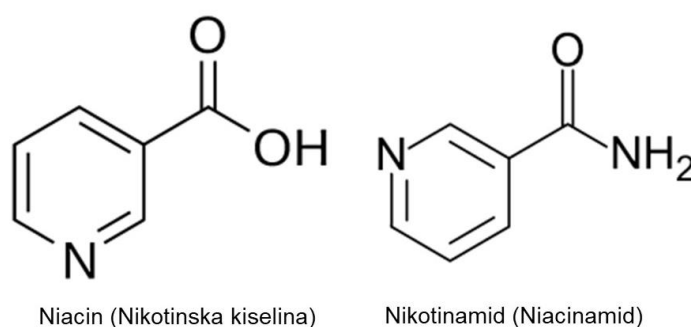
Varani i suradnici (2000) proučavali su učinak lokalne primjene 1 %-tnog retinola kod 53 osobe (80 godina ili više) s ostarjelom kožom. Autori su primijetili da je primjena retinola tijekom 7 dana smanjila izražavanje MMP, kolagenaze i gelatinaze uz istovremeno povećanje

rasta fibroblasta i sinteze kolagena u proučavanim uzorcima tkiva. Postoje mnoga istraživanja koja dokazuju djelotvornost retinola, no on je vrlo nestabilan i lako se razgrađuje u biološki neaktivne oblike pri izlaganju svjetlu i zraku pa se trebaju odabrati prikladni nosači, odnosno pomoćne tvari, poput nanočestica. (Mukherjee i sur., 2006)

2.2. NIACINAMID

2.2.1. Struktura i aktivnost

Niacinamid, također poznat kao nikotinamid, amidni je analog vitamina B3 (niacin). Niacin (nikotinska kiselina, vitamin B3) je esencijalni vitamin topljiv u vodi koji se ne pohranjuje u tijelu. (Chen i Damian, 2014)

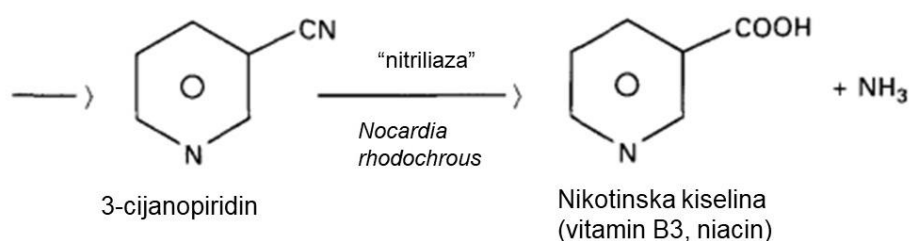


Slika 4. Kemijske strukture dva glavna oblika vitamina B3 (Chen i Damian, 2014)

Niacinamid se unosi prehranom iz hrane poput mesa, jetre, kvasca, mliječnih proizvoda, mahunarki, graha, orašastih plodova, sjemenki, zelenog lisnatog povrća, žitarice, kave i čaja. On je katalizator više biokemijskih reakcija u tijelu i prekursor je nekoliko koenzima, uključujući nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD) i nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADP), koji su ključni za naš metabolizam. (Forbat i sur., 2017) NAD je ključni koenzim u proizvodnji adenozin-trifosfata (ATP), stanične energetske valute koja prenosi kemijsku energiju unutar stanica. Stoga, suplementacija niacinamidom povećava staničnu energiju i može poboljšati energetske ovisne stanične procese poput popravka DNK. (Chen i Damian, 2014) Niacinamid je također jedini supstrat i inhibitor enzima poli-ADP-riboza- polimeraze 1 (PARP-1), koji se aktivira UV zračenjem. (Forbat i sur., 2017) PARP-1 ima nekoliko važnih funkcija, poput popravka DNK, očuvanja genomske stabilnosti i regulaciju transkripcijskih faktora. Međutim, kada je PARP-1 prekomjerno izražen, NAD se može pretjerano trošiti što dovodi do stanične disfunkcije ili nekroze. Održavanje adekvatne stanične energije i pravilno funkcioniranje PARP-1 važno je za brojna stanja kože za koje niacinamid može imati blagotvorne učinke. (Chen i Damian, 2014)

2.2.2. Izolacija

Ekstrakcija vitamina može se ostvariti jednom ili kombinacijom nekoliko sljedećih metoda: toplinom, kiselinom, lužinom, otapalima i enzimima. Postupci ekstrakcije su specifični za svaki vitamin te su osmišljeni kako bi ga održali stabilnim. Kod niacina taj se postupak najčešće odnosi na autoklaviranje u lužini ako se želi izolirati iz žitarica ili autoklaviranje u kiselini ako sirovina nije žitarica, no najčešće se uglavnom proizvodi kemijskom sintezom. (Nielsen, 2010; Vandamme, 1992) Za sada ne postoji neki komercijalni fermentacijski proces za proizvodnju niacinamida niti niacina, no postoje procesi u kojima je 3-cijanopiridin supstrat te se hidrolizira u niacin pomoću nitrilaze, ili se hidratizira u niacinamid pomoću nitrilne hidrataze (slika 5). Takva enzimaska hidroliza je katalizirana stanicama genetski modificirane bakterije *Rhodococcus rhodochrous*, dok se za proizvodnju niacinamida koristi rekombinantna *E. coli* koja proizvodi nitrilnu hidratazu iz *R. rhodochrous*. (Acevedo-Rocha i sur., 2019) Također se istražuje proizvodnja niacina biokonverzijom 3-cijanopiridina uz bakteriju *Nocardia rhodochrous* kao radni mikroorganizam koja ima nitrilaznu aktivnost, no taj se postupak i dalje vrši u manjim količinama kako bi se testirala izvedivost. (Vandamme, 1992)



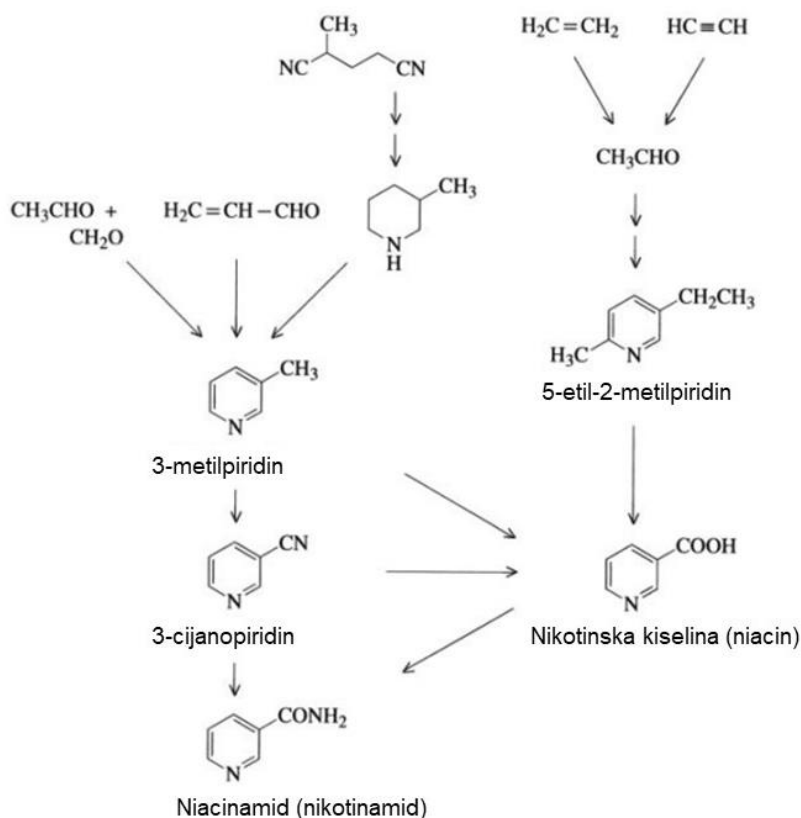
Slika 5. Biokonverzija 3-cijanopiridina u niacin (Vandamme, 1992)

S obzirom na nizak trošak kemijske sinteze i biokonverzije, te visok prinos ovih načina dobivanja niacina, ne postoji puno motivacije za razvoj i istraživanje fermentacijskog procesa za proizvodnju niacina ili niacinamida. (Acevedo-Rocha i sur., 2019)

2.2.3. Sinteza

Industrijska proizvodnja niacinamida i nikotinske kiseline temelji se na sirovinama 5-etil-2-metilpiridinu, koji nastaje reakcijom paraldehida s amonijakom te 3-metilpiridinu (3-pikolinu) koji se dobiva katalitičkom reakcijom plinovite faze acetaldehida, formaldehida i amonijaka kao nusproizvod s prinosom od 30 do 50 %, uz glavni produkt piridin (slika 6). Niacinamid se dobiva amidacijom nikotinske kiseline ili djelomičnom hidrolizom 3-cijanopiridina. 3-cijanopiridin se proizvodi oksidacijom 3-metilpiridina u prisutnosti amonijaka. Nikotinska

kiselina pripravlja se izravno oksidacijom 5-etil-2-metilpiridina dušičnom kiselinom ili potpunom hidrolizom 3-cijanopiridina. (Blum, 2011)



Slika 6. Industrijska proizvodnja nikotinske kiseline i niacinamida (Blum, 2011)

Globalno tržište nikotinske kiseline i niacinamida vrijedno je preko 400 milijuna američkih dolara s procijenjenom godišnjom proizvodnjom od 20200 tona. Najveća potražnja dolazi iz sektora stočne hrane (60-70% ukupnog tržišta), a preostalih 30-40% tržišta dijeli se na prehrambenu industriju, kozmetičku i farmaceutsku. (Bains i sur., 2013)

2.2.4. Primjena

Niacinamid ima dugu povijest korištenja u dermatologiji. Značajna je njegova uloga u liječenju buloznih dermatozata i akni, te je recentno zanimanje za primjenu niacinamida usmjereno na njegovu kemopreventivnu ulogu u nemelanomskom karcinomu kože i kozmetičkim primjenama. (Chen i Damian, 2014)

Berson i sur. (2013) proveli su klinička istraživanja na ljudima koja su trajala do šest mjeseci i u kojima su uočeni značajni učinci na njegu kože pri lokalnoj primjeni niacinamida.

Pokazali su da lokalna primjena niacinamida smanjuje površinski sebum u uzorcima biopsije kože, veličinu pora i specifične komponente sebuma poput glicerida i masnih kiselina. Ova promjena u sastojcima sebuma dovodi do vidljivog smanjenja veličine pora i poboljšanja teksture kože.

Rezultati istraživanja također ukazuju na smanjenje izgleda finih linija i bora na licu nakon 8 i 12 tjedana topičke primjene hidratantne kreme koja sadrži niacinamid. Uočili su i smanjen izgled hiperpigmentacijskih mrlja s vidnim poboljšanjima već nakon četiri tjedana primjene. Daljnja istraživanja koja procjenjuju utjecaj lokalnog i oralnog niacinamida na prevenciju imunosupresije uzrokovane UV zračenjem potvrđuju sposobnost ove komponente da blokira ovaj ključni put u razvoju raka, što se očituje smanjenjem učestalosti akinetičke keratoze. (Benson i sur., 2013)

U istraživanju na 28 pacijenata krema s 2 % niacinamida značajno je smanjila transepidermalni gubitak vode. Niacinamid potiče sintezu ceramida, slobodnih masnih kiselina i kolesterola te poboljšava barijeru epidermalne propusnosti. (Soma i sur., 2005) Draelos i sur. (2005) proveli su kliničko istraživanje kojem su dokazali da hidratantna krema za lice s niacinamidom može poboljšati kožnu barijeru i ublažuje simptome rozaceje. Niacinamid također pruža snažno protuupalno djelovanje bez rizika od bakterijske rezistencije. U dvostrukoj slijepoj studiji na 76 pacijenata, 4 % niacinamid gel pokazao je sličnu učinkovitost kao i 1 % klindamicin gel u smanjenju akni nakon 8 tjedana lokalne primjene. Zbog rizika od razvoja rezistencije kod klindamicina, niacinamid gel predstavlja poželjnu alternativu u liječenju akni. (Shalita i sur., 1995)

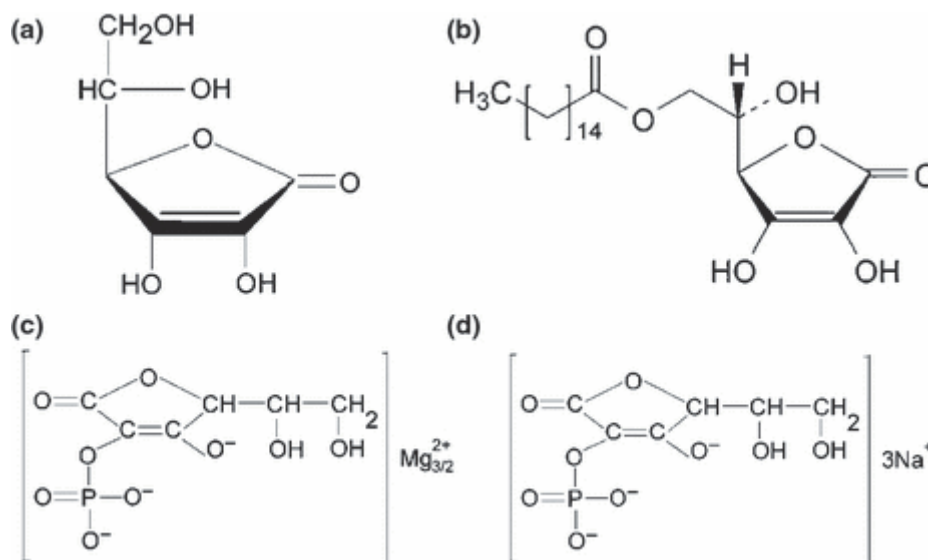
2.3. VITAMIN C

2.3.1. Struktura i aktivnost

Vitamin C (L-askorbinska kiselina) je molekula topljiva u vodi koja ima nekoliko važnih bioloških uloga u očuvanja zdravlja kože zbog čega je čest sastojak krema za lokalnu primjenu. (Enescu i sur., 2021) Postoje značajni dokazi da vitamin C igra važnu ulogu u prevenciji velikog broja kroničnih bolesti kao što su rak, moždani udar, dijabetes, infarkt miokarda i sindrom stečene imunodeficijencije. (Segall i Moyano, 2008) Djeluje kao antioksidans neutralizirajući i uklanjajući štetne molekule slobodnih radikala nastale izlaganjem ultraljubičastom (UV) zračenju i štetnim tvarima iz okoliša. (Enescu i sur., 2021)

Spomenute biološke aktivnosti vitamina C proizlaze iz njegove endiolne strukture, koja pokazuje snažnu sposobnost doniranja elektrona (slika 7). Međutim, niska stabilnost vitamina C predstavlja ozbiljno ograničenje, budući da se lako oksidira, osobito u prisutnosti kisika i

izloženosti svjetlu. U prvom, reverzibilnom koraku se razgrađuje do dehidroksiaskorbinske kiseline, a zatim ireverzibilno u oksalnu kiselinu. (Segall i Moyano, 2008) Dodatan izazov u lokalnoj primjeni predstavlja osiguravanje učinkovitog prodiranja vitamina C u kožu i ulazak u epidermalne stanice obzirom da se on fizički odbija od hidrofobne barijere rožnatog sloja kože. Stoga je dizajnirano nekoliko derivata vitamina C kako bi se optimirala učinkovitost i savladale prepreke u prodiranju komponente do epidermalnih stanica i stabilnosti. (Enescu i sur., 2021)



Slika 7. (a) vitamin C (b) askorbil palmitat (c) magnezijev askorbil fosfat (d) natrijev askorbil fosfat (Segall i Moyano, 2008)

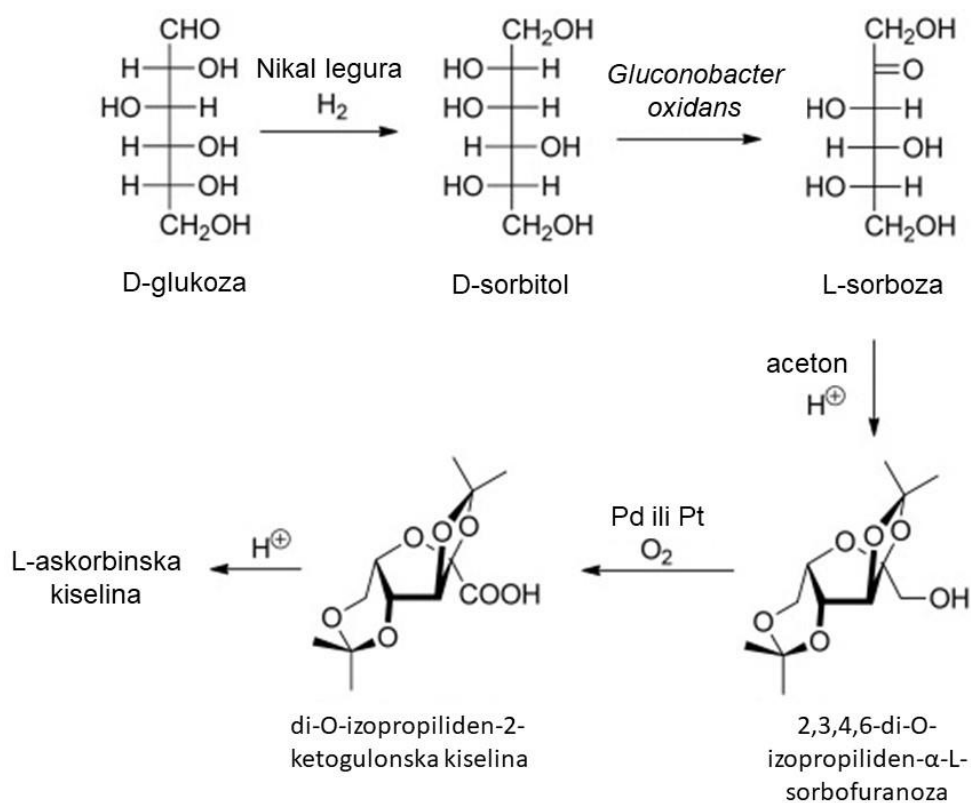
Među lipofilnim derivatima nalazi se askorbil-palmitat koji se često koristi u lokalnim pripravcima protiv oksidativnih promjena bioloških promjena kože i kao antioksidans za zaštitu lipofilnih sastojaka u formulacijama. Zbog svojeg lipofilnog karaktera, askorbil-palmitat lakše prodire u kožu, dok se soli askorbil-fosfata moraju enzimskim hidrolitičkim procesom razgraditi prije nego što mogu prodrijeti u kožu. Fosfatni esteri vitamina C služe kao hidrofilni antioksidansi i povećavaju stabilnost prema lužinama, oksidaciji i dugotrajnom skladištenju. Naširoko je korišten magnezijev askorbil-fosfat kao sastojak za izbjeljivanje u kozmetici. Natrijev askorbil-fosfat jedan je od najučinkovitijih neutralizatora slobodnih radikala i ima najveći potencijal za usporavanje štetnih učinaka uzrokovanih fotooštećenjem. Štiti stanice od slobodnih radikala, potiče stvaranje kolagena i djeluje na proces formiranja melanina. (Segall i Moyano, 2008)

2.3.2. Izolacija

Posljednjih godina razvijene su različite metode za ekstrakciju bioaktivnih spojeva iz prirodnih izvora. Neke od njih temelje se na ekstrakciji otapalima, poput Soxhlet ekstrakcije i maceracije, ali pokazale su određene nedostatke u pogledu ekološke održivosti, ekonomičnosti i troškova energije. Zbog toga su u posljednjim desetljećima alternativne zelene tehnike smatraju učinkovitim opcijama za izolaciju vitamina C. Proces ekstrakcije najčešće započinje od sirovina poput voća (ili njihove kore i sjemenki), lišća, povrća, algi ili drugih biljnih materijala. Sirovina može biti svježa ili se može prethodno obraditi zamrzavanjem, liofilizacijom ili toplinskim sušenjem, a zatim usitniti u prah, dok prinos željenog bioaktivnog spoja uvelike ovisi o parametrima predobrade. Budući da je askorbinska kiselina termoosjetljiva, visoke temperature obrade (50–60 °C) i duga izloženost tim temperaturama mogu smanjiti prinos ekstrakcije. Među novim metodama ekstrakcije značaj su stekle ultrazvučna, mikrovalna, ekstrakcija tekućinom pod tlakom i ekstrakcija superkritičnim fluidom. Ove tehnike djeluju pod blagim uvjetima uključujući niske temperature potrebne za izbjegavanje razgradnje vitamina C i koristeći vodene ili etanolne otopine kao otapala. Fizički podražaji, poput ultrazvučnih valova ili mikrovalova, te varijacije u tlaku poboljšavaju proces ekstrakcije. Ove metode daju rezultate koji su usporedivi s rezultatima dobivenim konvencionalnom ekstrakcijom otapalom, a istovremeno smanjujući troškove, vrijeme i potrošnju energija. (Susa i Pisano, 2023)

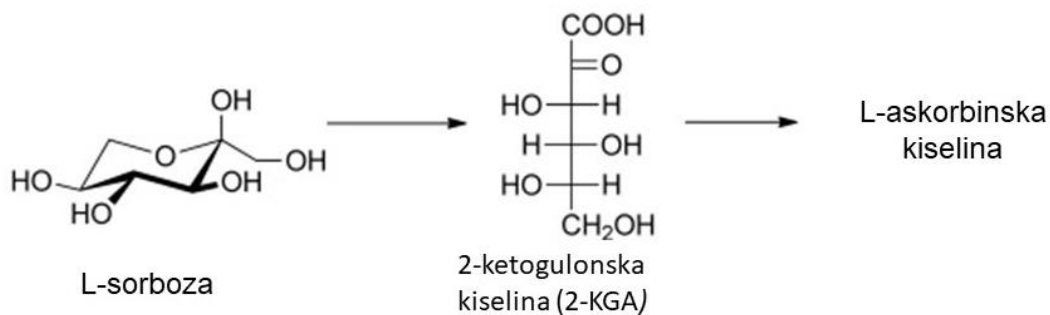
2.3.3. Sinteza

Vitamin C bio je od 1933. godine prvi komercijalno dostupan vitamin tvrtke Merck (Cebion), izoliran iz biljnih listova. Prva industrijska kemijska proizvodnja također je bila proizvodnja vitamina C, a postigla ju je tvrtka F. Hoffmann-La Roche 1934. godine, temeljeći pripremu na kombiniranom fermentacijskom i kemijskom procesu koji je razvio Tadeus Reichstein. Polihidroksilni spojevi korišteni su kao početni materijali u svim učinkovitim sintezama vitamina C. Kemijska sinteza može započeti s različitim šećerima, ovisno o odabranom reakcijskom putu, dok biotehnološki pristupi koriste samo glukozu kao početni materijal. Prva industrijska priprema vitamina C koristila je Reichstein–Grüssnerov proces (slika 8). D-Glukozu se hidrogenira preko katalizatora (legura nikla) kako bi se dobio sorbitol. Mikrobiološka oksidacija pomoću *Gluconobacter oxydans* rezultira stvaranjem L-sorboze. Reakcijom kataliziranom kiselinom s acetonom nastaje 2,3,4,6-di-O-izopropiliden- α -L-sorbofuranoza, koja se oksidira s visokim prinosom i selektivnošću u di-O-izopropiliden-2-ketogulonsku kiselinu. Kiselinški tretman uklanja acetalne zaštitne skupine, a nastala 2-ketogulonska kiselina (2-KGA) prevodi se u L-askorbinsku kiselinu. (Eggersdorfer i sur., 2012)



Slika 8. Reichstein–Grüssnerov proces za proizvodnju L-askorbinske kiseline (Eggersdorfer i sur., 2012)

Još jedan zanimljiv pristup sintezi L-askorbinske kiseline obuhvaća sintezu 2-KGA izravnom oksidacijom L-sorboze (slika 9). Ovu reakciju istraživalo je nekoliko istraživačkih skupina s malo uspjeha. (Eggersdorfer i sur., 2012)



Slika 9. Direktna oksidacija L-sorboze (Eggersdorfer i sur., 2012)

Dvostupanjski mikrobní proces fermentacije razvijen u Kini kasnih 1960-ih i ranih 1970-ih općenito se koristi za proizvodnju 2-KGA biotehnoškim pristupom. Slično Reichstein–Grüssnerovom procesu, L-sorboza se dobiva oksidacijom D-sorbitola pomoću bakterije *Gluconobacter*. Međutim, za razliku od kemijske oksidacije, biokemijska oksidacija provodi se u drugom fermentacijskom koraku s vrstama *Ketogulonicigenium*, a 2-KGA se dobiva oksidacijom međuprodukta L-sorbozona. Kao i u Reichstein–Grüssnerovom procesu, ona se na kraju pretvara kiselinom kataliziranom reakcijom preko metilnog estera u L-askorbinsku kiselinu. Opisani dvostupanjski mikrobní fermentacijski proces vrlo je učinkovit i može proizvesti do 130 g/L 2-KGA s prinosom od preko 80 % računajući od D-sorbitola. U usporedbi s Reichstein–Grüssnerovim procesom, fermentacijski proces za 2-KGA nudi jasnu ekonomsku prednost, budući da zahtijeva manje kemikalija i energije, a također značajno manja ulaganja u proizvodnu opremu zbog jednostavnijih zahtjeva procesa. Svi dosadašnji bioprocesi za L-askorbinsku kiselinu na industrijskoj razini rezultirali su formiranjem prekursora 2-KGA, koji se skupim kemijskim korakom prevodi u askorbat. Pokušaji smanjenja troškova i osmišljavanja mikrobnih puteva za izravnu proizvodnju L-askorbinske kiseline nisu bili uspješni. Mikroalge poput vrsta *Chlorella* dale su do 2 g/L vitamina C, ali niska produktivnost nije omogućila komercijalnu primjenu postupka izolacije. Drugi obećavajući izravan put do L-askorbinske kiseline utvrđen je otkrićem dehidrogenaza prisutnih u vrstama *Ketogulonicigenium* i *Gluconobacter* koje izravno pretvaraju L-sorbozon, djelomično oksidirani biosintetski međuprodukt mikrobnih procesa za 2-KGA, u vitamin C. (Eggersdorfer i sur., 2012)

2.3.4. Primjena

Optimalna primjena vitamina C u kozmetičkim proizvodima zahtijeva pažljivo odabiranje njegove koncentracije koja ovisi o formulaciji proizvoda. U većini slučajeva, potrebna je koncentracija veća od 8 %, a istraživanja su pokazala da koncentracija iznad 20 % ne povećava učinkovitost te može i uzrokovati iritaciju kože tako da se najčešće javljaju proizvodi koji sadrže vitamin C u koncentraciji 10-20 %.

Vitamin C jedan je od najsnažnijih antioksidansa u koži koji neutralizira oksidativni stres procesom prijenosa i/ili doniranja elektrona. Oksidativni stres ubrzava oštećenje kože i uzrokovan je vanjskim čimbenicima poput sunčevog zračenja, zagađenja i pušenja. Pomaže i u zaštiti kože od fotostarenja koji je također uzrokovan UV zračenjem. UV zračenje uzrokuje stvaranje slobodnih radikala, što dovodi do oštećenja kolagena i elastina u koži. Dok su kreme za sunčanje djelomično učinkovite, vitamin C inhibira aktivaciju aktivacijskog proteina 1 i smanjuje proizvodnju MMP-a koji razgrađuju kolagen. (Al-Niaimi i Chiang, 2017) Fitzpatrick i Rostan (2002) proveli su kliničko istraživanje na 10 ispitanika koji su koristili 10 % vitamin C

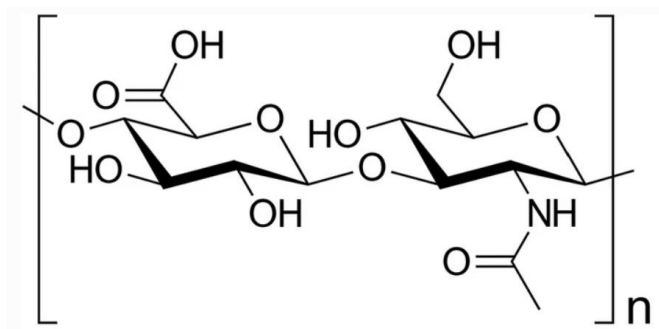
tijekom 12 tjedana. Uočeno je značajno smanjenje znakova fotooštećenja i poboljšan izgled bora kod pacijenata tretiranih vitaminom C u usporedbi s placebo skupinom.

Vitamin C ključan je za biosintezu kolagena i djeluje kao kofaktor za enzime koji su važni za izgradnju i stabilizaciju kolagena što doprinosi smanjenju starenja kože. Također je poznat kao glavni nadopunjivač vitamina E. Vitamin E je lipofilni antioksidans i ima ključnu ulogu u zaštiti staničnih membrana od oksidativnog stresa te u održavanju mreže kolagena u koži. Vitamin C djeluje i kao sredstvo protiv pigmentacije tako da se veže za bakrene ione na aktivnim mjestima tirozinaze i tako inhibira djelovanje enzima tirozinaze, glavnog enzima odgovornog za pretvorbu tirozina u melanin, čime smanjuje stvaranje melanina. (Al-Niaimi i Chiang, 2017)

2.4. HIJALURONSKA KISELINA

2.4.1. Struktura i aktivnost

Hijaluronska kiselina (HA, *engl. hyaluronic acid*) je ugljikohidrat, točnije glikozaminoglikan (mukopolisaharid), koji se prirodno pojavljuje u svim živim organizmima, a može imati i do nekoliko tisuća monosaharidnih jedinica u svom sastavu. Enzimi hijaluronan-sintetaze sintetiziraju velike, linearne polimere s ponavljajućom disaharidnom strukturom HA kroz izmjenično dodavanje D-glukuronske kiseline i N-acetil-D-glukozamina koji su povezani izmjeničnim β -1,4 i β -1,3 glikozidnim vezama u rastući lanac koristeći svoje aktivirane nukleotidne šećere [UDP – glukuronska kiselina i UDP-N-acetilglukozamin) kao supstrate] (slika 10). Oba šećera imaju strukturne sličnosti s glukozom, koja u β konfiguraciji omogućuje da svi njeni veći dijelovi (hidroksilne skupine, karboksilatni dio i anomerni ugljik na susjednom monosaharidu) budu u sterički povoljnim ekvatorijalnim položajima, dok svi mali atomi vodika zauzimaju manje sterički povoljne aksijalne položaje. Stoga je struktura disaharida energetski vrlo stabilna. Broj ponavljajućih disaharida u dovršenoj molekuli HA može dosegnuti 10 000 ili više, s molekulskom masom od približno 4 milijuna Daltona (svaki disaharid je oko 400 Daltona). (Necas i sur., 2008)



Slika 10. Struktura hijaluronske kiseline (Salih i sur., 2024)

HA se primarno nalazi u izvanstaničnom i pericelularnom matriksu, ali se pojavljuje i unutar stanica. Nalazi se u obliku natrijevog hijaluronata i prisutna je u različitim mekim vezivnim tkivima, uključujući kožu, pluća, bubrege, mozak i mišiće. Biološke funkcije HA uključuju održavanje viskoelastičnosti tekućih vezivnih tkiva poput sinovijalne tekućine i staklovine u oku, kontrolu hidratacije tkiva i transporta vode te brojne receptorima posredovane uloge u odvajanju stanica, mitozu, migraciji, razvoju tumora i metastazama, te upravo zbog svoje teksture i kompatibilnosti s tkivom, često se koristi u proizvodima za njegu kože kao izvanredan hidratantni sastojak. HA je jedna od najhidrofilnijih molekula u prirodi. (Necas i sur., 2008)

2.4.2. Izolacija

1934. prvi je put izoliran tada novi polisaharid iz staklovine oka goveda. Otkrili su da sadrži uronsku kiselinu i aminosaharid te su polisaharid nazvali „hijaluronska kiselina“ prema riječima hijaloid (staklasto) i uronska kiselina. Tijekom 1930-ih i 1940-ih godina HA izolirana je iz mnogih prirodnih izvora kao što su već spomenuta staklovina, pupkovina, krijesta pijetla i streptokoki. (Liu i sur., 2011) HA ekstrahira se iz krijeste pijetla ili se proizvodi mikrobiološkom fermentacijom. Postupak koji je razvio Balazs bio je prva industrijski primijenjena metoda ekstrakcije za izolaciju i pročišćavanje HA farmaceutske kvalitete. Pupkovine i krijeste pijetlova su smrznute kako bi se uništile stanične membrane, a HA je ekstrahirana vodom. U krijesti pijetla ona je u kompleksu s proteoglikanima zbog čega je izolacija visoke čistoće i visoke molekularne mase. Nakon pročišćavanja ekstrakta prinos je bio 0,9 grama HA po kilogramu početnog materijala. Osim toga, upotreba biokemikalija životinjskog podrijetla pri terapijskom tretmanu ljudi nailazi na sve veći otpor zbog rizika od prijenosa virusa i drugih patogena između vrsta. Stoga mikrobiološka proizvodnja postupno zamjenjuje ekstrakciju kao preferirani izvor HA. (Chong i sur., 2004; Lapčik i sur., 1998)

2.4.3. Sinteza

Iako je provedeno nekoliko istraživanja o kemijskoj sintezi HA, još uvijek postoje brojni izazovi poput dugotrajnosti procesa i strogih uvjeta proizvodnje, stoga kemijska sinteza HA ostaje složena i skupa. (Li i sur., 2020)

HA najčešće se sintetizira pomoću bakterija iz roda *Streptococcus*, posebno *Streptococcus zooepidemicus* za koju je provedeno najviše istraživanja o sintezi HA kod prokariota i ona je jedna najčešće korištenih organizama zbog svoje visoke stope proizvodnje HA s prinosom do 7 g/L pod pogodnim uvjetima i lakoće uzgoja. (Serra i sur., 2023; Ucm i sur., 2022)

Još uvijek postoje izazovi koje treba prevladati kod biotehnološke proizvodnje HA, kao što su ograničena proizvodnja zbog visoke viskoznosti biomase i hranjive podloge što uzrokuje poteškoće u miješanju i brzini prijenosa kisika; kompeticija za iste prekursore potrebne za rast stanica i proizvodnju HA; te nakupljanje mliječne kiseline, glavnog nusproizvoda fermentacije HA, što uzrokuje inhibiciju rasta stanica i proizvodnje HA. Kako bi se ti izazovi prevladali i kako bi se povećao prinos, utvrđeno je nekoliko bitnih stvari: pravilan odabir radnog mikroorganizma, hranjive podloge, načina i uvjeta uzgoja.

Radni mikroorganizam mora imati sposobnost proizvodnje visokog prinosa HA, biti jednostavan za uzgoj i imati niske troškove proizvodnje. Daljnje poboljšanje sojeva zahtijeva genetsko inženjerstvo radnih mikroorganizama kako bi se prilagodio metabolički put. Kako bi se izbjegao rizik od kontaminacije egzotoksinima u proizvodu iz patogenih sojeva streptokoka, sigurni organizmi genetski su inženjerski prilagođeni za proizvodnju HA: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium* sp. i *L. lactis*. (Serra i sur., 2023; Boeriu i sur., 2013)

Hranjiva podloga mora sadržavati izvor ugljika, dušika, vitamina i minerala i drugih faktora rasta za mikroorganizam. Koriste se hranjive podloge u kojima su šećeri poput glukoze i fruktoze sirovine, no one mogu biti skupe tako da se razmatraju alternativne i ekološki prihvatljivije opcije kao što su poljoprivredni otpad, industrijski otpad i sintetski supstrati (hidrolizati škroba i celuloze). Optimalni uvjeti uzgoja ovise o radnom mikroorganizmu. Temperatura varira između 30 i 37 °C, pH između 6,5-7,5, a aeracija, intenzitet miješanja i početna koncentracija supstrata ovise o radnom mikroorganizmu i sastavu hranjive podloge. Najprikladniji način uzgoja također ovisi o mikroorganizmu, ali i o opsegu proizvodnje. Često se koristi i kombinacija različitih načina uzgoja kako bi se dobio najveći prinos. (Serra i sur., 2023.)

2.4.4. Primjena

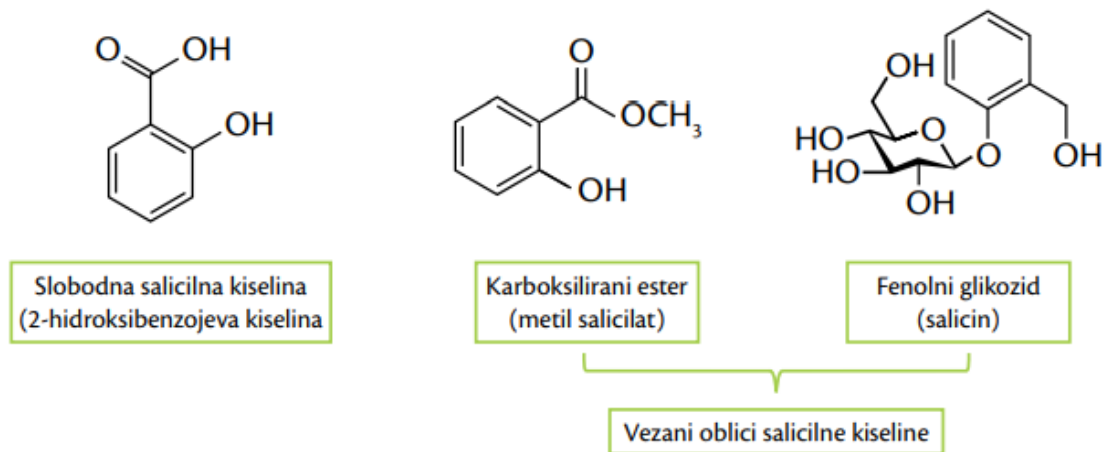
HA koristi se u kozmetičkim proizvodima u koncentracijama koje variraju 0,2–1 %. U kontaktu s vodom, ona ima sposobnost povećanja svog volumena, što dovodi do omekšavanja bora ispunjavanjem prostora između stanica kože i stvaranjem viskoznog gel matriksa. Vrijeme poluživota HA u tkivima je samo 12–24 h. Kao rezultat toga, umrežene forme HA koriste se u lokalnim i kozmetičkim preparatima.

Zbog velikog broja polarnih skupina prisutnih u svojoj molekuli, HA je hidrofilna makromolekula za koju je potvrđeno da djeluje protiv starenja kože i ima hidratantna svojstva. U vodenim otopinama može formirati viskoelastične gelove, a kada se nanese na kožu, osigurava hidrataciju, učvršćivanje, pomlađivanje i poboljšava učinke zacjeljivanja rana. (Juncan i sur., 2021) Sposobnost HA da proдре kroz biološku barijeru prvenstveno je određena njezinom molekulskom masom. HA visoke molekulske mase, (> 600 kDa), ima lošu propusnost kroz kožu i obično formira vrlo tanak zaštitni sloj hidratacije na epidermisu i ima bitnu ulogu u zadržavanju hidratacije kože. Nasuprot tome, HA niske molekulske mase može prodrijeti kroz dublje slojeve kože i dosegnuti razinu hipoderme. Pokazuje učinak protiv starenja jer povećava sintezu kolagena i na sebe veže vodu. HA visoke molekulske mase koristi se za tretiranje bora, nazolabijalnih nabora, tamnih krugova, udubljenja ispod očiju i povećanje usnica. HA visoke molekulske mase također se koristi za povećanje volumena tkiva, što ističe svestranost ove molekule. (Salih i sur., 2024)

2.5. SALICILNA KISELINA

2.5.1. Struktura i aktivnost

Salicilna kiselina (2-hidroksibenzojeva kiselina) je monohidroksibenzojeva kiselina, tj. benzojeva kiselina s hidroksilnom skupinom u *ortho* položaju, molekulske formule $C_7H_6O_3$, osnovna je supstanca salicilata, a pripada skupini nesteroidnih protuupalnih lijekova. U biljkama se pojavljuje u dva glavna oblika, kao slobodna salicilna kiselina i kao vezani oblik karboksilirani ester (metil-salicilat) i fenolni glikozid (salicin) (slika 11). Zbog svoje fenolne strukture ima potencijalnu ulogu kao ne-enzimatski antioksidans.



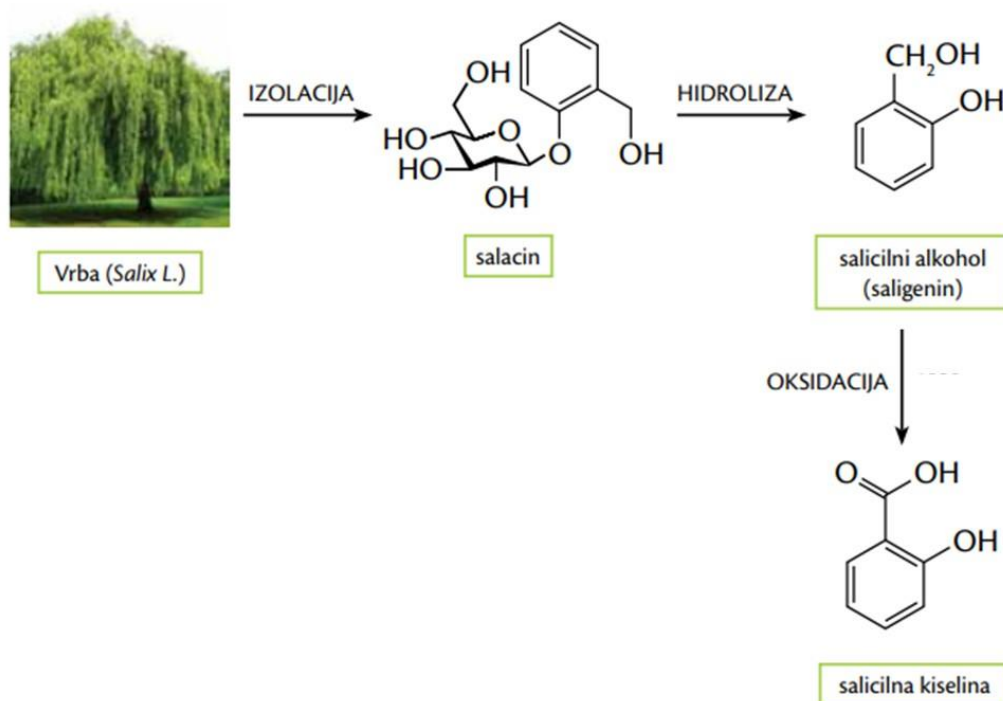
Slika 11. Slobodni i vezani oblik salicilne kiseline (Varga i sur., 2018)

Salicilna kiselina je antiinfektivno i antifungalno sredstvo, keratolitički lijek, inhibitor L-askorbat-peroksidaze, biljni i algalni metabolit i biljni hormon. (Varga i sur., 2018; PubMed)

2.5.2. Izolacija

Salicilna kiselina prvi put je identificirana u kori vrbe (rod *Salix*), koja se od davnina koristi za ublažavanje boli i smanjenje groznice zbog svojih analgetskih, antipiretskih i protuupalnih svojstava.

Razvoj kemijskih tehnika u 18. i 19. stoljeću omogućio je znanstvenicima da karakteriziraju spojeve koji su izdvojeni iz kore vrbe, pa je tako Leroux je 1826. godine izolirao ono što će kasnije biti nazvano "salicin". Dvije godine kasnije, Johann Buchner također je pročistio isti spoj i nazvao ga salicin, što na latinskom znači "vrba". Druge su skupine istovremeno pročistile salicin i optimizirale protokol za njegovo izdvajanje iz kore vrbe (slika 12). Godine 1838. Raffaele Piria dobio je salicilnu kiselinu iz salicina. (Grosser i sur., 2015)



Slika 12. Shematski prikaz izolacije salicilne kiseline iz vrbe (Varga i sur., 2018)

2.5.3. Sinteza

Hermann Kolbe je 1860. razvio jednu od rijetkih industrijski relevantnih reakcija karboksilacije. To je postignuo zagrijavajući smjesu fenola i natrija u prisutnosti CO_2 pri atmosferskom tlaku. Reakcija je tekla putem formiranja natrijeva salicilata koji je zatim otopljen u vodi i istaložen kao salicilna kiselina nakon zakiseljavanja (slika 13). (Mohammad i sur., 2023)



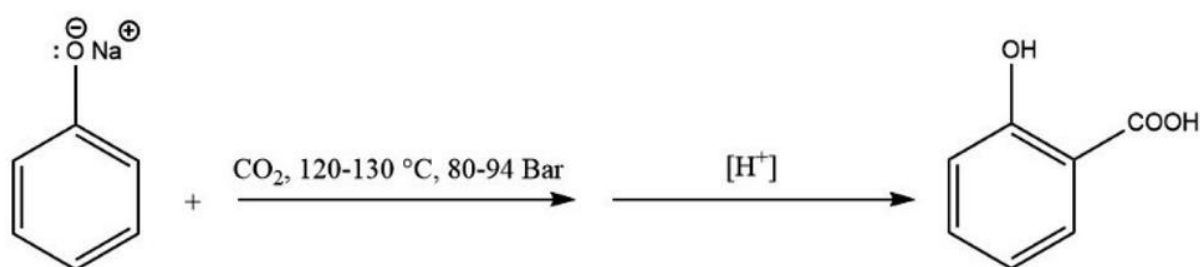
Slika 13. Prva sinteza salicilne kiseline u 1860. (Mohammad i sur., 2023)

Nakon nekoliko godina bilo je potrebno pripremiti znatno veću količinu salicilne kiseline. Prvu reakciju sinteze trebalo je prilagoditi jer su se prinosi razlikovali pod naizgled sličnim reakcijskim uvjetima. Kolbe je otkrio da je uzrok tih varijacija isparavanje polovice početne količine fenola iz reakcijske smjese. Također je otkrio da se u reakciji ne proizvodi

samo natrijev salicilat, već i natrijev fenoksid i natrijev karbonat. Na temelju ovih zapažanja, predložio je novu proceduru za pripremu salicilne kiseline polazeći od natrijevog fenoksida.

Osušeni natrijev fenoksid zagrijavao se na 180 °C, dok se CO₂ polako provodio preko zagrijane soli. Konačna temperatura podignuta je na 220–250 °C, a reakcija se smatrala završenom kada se više nije moglo destilirati fenol. Budući da je polovica početnog fenola izgubljena isparavanjem, prinos salicilne kiseline nikada nije prelazio 50%. (Mohammad i sur., 2023)

Schmitt je poboljšao Kolbeovu metodu 1884. godine provodeći reakciju pri sniženom tlaku, što je značajno povećalo ukupni prinos. U zatvorenoj posudi, suhi natrijev fenoksid se zagrijavao s ugljikovim dioksidom na 120–130 °C nekoliko sati pri tlaku od 80 do 94 bara. Pri tim uvjetima nije bilo gubitka fenola, te je postignut gotovo kvantitativni prinos salicilne kiseline. Ova procedura sada je poznata kao Kolbe–Schmittova reakcija i još uvijek je standardna metoda za proizvodnju salicilne kiseline (slika 14). (Mohammad i sur., 2023)



Slika 14. Industrijski primijenjena Kolbe-Schmitt reakcija (Mohammad i sur., 2023)

2.5.4. Primjena

Sposobnost salicilne kiseline da omekša i eksfolira rožnati sloj kože otkrivena je 1860-ih godina. Koristi se u mnogim pripravcima za akne za lokalnu upotrebu i poznato je da poboljšava prodiranje drugih sredstava za lokalnu uporabu. (Arif, 2015)

Salicilna kiselina topljiva je u mastima stoga se može miješati s epidermalnim lipidima i lipidima iz lojnih žlijezda u folikulama dlake. Ima keratolitička i komedolitička svojstva, iako točni mehanizmi djelovanja nisu potpuno jasni. Salicilna kiselina također smanjuje izlučivanje sebuma kod pacijenata s aknama, što dodatno doprinosi njenom terapijskom učinku kod ovih pacijenata. (Arif, 2015)

Salicilna kiselina uklanja intercelularne lipide koji su kovalentno vezani za rožnatu ovojnicu koja okružuje površinske epitelne stanice zbog čega ju mnogi dermatolozi koriste u kemijskom pilingu kože. Kohezija epidermalnih stanica u koži oslanja se na desosome, a otkriveno je da salicilna kiselina uklanja proteine koji grade takvu strukturu. Zbog toga dolazi do gubitka

kohezije epidermalnih stanica što rezultira ekfolijacijom. Upotreba salicilne kiseline na ljudskoj koži uzrokuje stanjivanje rožnatog sloja bez promjene debljine epidermisa. (Arif, 2015)

Javlja se u proizvodima za njegu kože u raznim koncentracijama, tako da se može naći u koncentraciji 0,5-10 % u proizvodima koji se koriste za akne, 3-6 % u proizvodima za hiperkeratotične poremećaje kože poput psorijaze, ihtioze i keratosis pilaris, te u koncentraciji 20-30 % za površinski kemijski piling lica. Pripravci za lokalnu upotrebu općenito se dobro podnose kod svih tipova kože. (Arif, 2015) Za upotrebu kao konzervans, u kozmetičkim proizvodima javlja se u koncentraciji od 0,5 %. (Yeoh i Goh, 2021)

2. ZAKLJUČCI

Pregledom literature vezane za temu izolacija, sinteza i važnost aktivnih sastojaka, utvrđeno je da:

1. Retinol, jedan od oblika vitamina A, spoj je nestabilne kemijske strukture koji igra ključnu ulogu u preveniranju gubitka vida, diferencijaciji stanica i ekspresiji gena. Izolira se iz ulja jetre riba, a sintetički se može dobiti iz β -jononskog prstena kao supstrata. Ima široku primjenu u proizvodima za njegu kože jer ima sposobnost poticanja sinteze kolagena, poboljšavanja elastičnosti i teksture kože.
2. Niacinamid (nikotinamid) analog je vitamina B3 i prekursor koenzima NAD i NADP koji se kemijski sintetizira iz nikotinske kiseline. Čest je sastojak proizvoda za njegu kože jer dokazano smanjuje izlučivanje sebuma, poboljšava teksturu kože, smanjuje hiperpigmentaciju, ima protuupalna svojstva i uklanja hiperpigmentaciju.
3. Vitamin C (L-askorbinska kiselina), molekula je topljiva u vodi, a koja djeluje kao snažan antioksidans i koja se može izolirati iz prirodnih izvora, ali i dobiti kao produkt dvostupanjskog mikrobnog procesa fermentacije. Primjenjuje se u kozmetici jer neutralizira oksidativni stres, smanjuje znakove fotooštećenja, djeluje kao kofaktor enzima za sintezu kolagena i djeluje kao sredstvo protiv pigmentacije.
4. Hijaluronska kiselina je glikozaminoglikan s nekoliko tisuća monosaharida u svojem sastavu koji je često prisutan u vezivnim tkivima. Može se izolirati iz prirodnih izvora, no češća je biotehnološka proizvodnja pomoću bakterija iz roda *Streptococcus*. Čest je sastojak proizvoda za njegu kože zbog svojih hidratantnih i pomlađujućih svojstava.
5. Salicilna kiselina, izolirana iz kore vrbe i industrijski sintetizirana Kolbe-Schmittovom reakcijom, molekula je koja je topljiva u mastima i pokazuje keratolitička i komedolitička svojstva. Zbog svoje sposobnosti da omekša i eksfolira rožnati sloj kože koristi se u visokim koncentracijama za kemijski piling lica, i u manjim koncentracijama u proizvodima koji se koriste za akne ili hiperkeratotične poremećaje.
6. Svaki od istraživanih spojeva ima posebnu kemijsku strukturu i metode izolacije i sinteze koji utječu na njihovu efikasnost i primjenu u kozmetičkim proizvodima. Razumijevanje ovih karakteristika pomaže u optimizaciji korištenja proizvoda koji sadržavaju aktivne sastojke u svakodnevnoj rutini njege kože.

3. POPIS LITERATURE

Acevedo-Rocha CG, Gronenberg LS, Mack M, Commichau FM, Genee HJ (2019) Microbial cell factories for the sustainable manufacturing of B vitamins. *Curr Opin Biotech* **56**, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.006>

Al-Niaimi F, Chiang NYZ (2017) Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *J Clin Aesthet Dermatol* **10** (7), 14–17.

Arif T (2015) Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review. *Clin Cosmet Investig Dermatol* **455**. <https://doi.org/10.2147/ccid.s84765>

Bains P, Clark AB, Lowey A, Soo J (2013) A Green Process for Niacinamide Production.

Berson DS, Osborne R, Oblong JE, Hakozaiki T, Johnson MB, Bissett DL (2013) Niacinamide. U: Farris PK (ured.) *Cosmeceuticals and Cosmetic Practice*, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, str. 103–112.

Blum R (2011) Vitamins, 11. Niacin (Nicotinic acid, nicotinamide). *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. https://doi.org/10.1002/14356007.o27_o14

Boeriu CG, Springer J, Kooy FK, Van Den Broek LaM, Eggink G (2013b) Production methods for hyaluronan. *Int J Carbohydr Chem* **2013**, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2013/624967>

Bonrath W, Gao B, Houston P, McClymont T, Müller M, Schäfer C i sur. (2023) 75 Years of Vitamin A Production: A historical and scientific overview of the development of new methodologies in chemistry, formulation, and biotechnology. *Org Process Res Dev* **27** (9), 1557–1584. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.3c00161>

Chen AC, Damian DL (2014) Nicotinamide and the skin. *Australas J Dermatol* **55** (3), 169–175. <https://doi.org/10.1111/ajd.12163>

Chong BF, Blank LM, Mclaughlin R, Nielsen LK (2004) Microbial hyaluronic acid production. *Appl Microbiol Biot* **66** (4), 341–351. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1774-4>

Draelos ZD, Ertel K, Berge C (2005) Niacinamide-containing facial moisturizer improves skin barrier and benefits subjects with rosacea. *Cutis*, **76** (2), 135–141.

Eggersdorfer M, Laudert D, Létinois U, McClymont T, Medlock J, Netscher T i sur. (2012) One Hundred Years of Vitamins—A success Story of the Natural Sciences. *Angew Chem Int Edit* **51** (52), 12960–12990. <https://doi.org/10.1002/anie.201205886>

Enescu CD, Bedford LM, Potts G, Fahs F (2021) A review of topical vitamin C derivatives and their efficacy. *J Cosmet Dermatol-US* **21** (6), 2349–2359. <https://doi.org/10.1111/jocd.14465>

Farris PK (2013) Cosmeceuticals and Cosmetic Practice. U: Berson DS, Osborne R, Oblong JE, Hakozaki T, Johnson MB, Bissett DL (ured.) Niacinamide, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, str. 103–112. 10.1002/9781118384824.ch10

Fitzpatrick RE, Rostan EF (2002) Double-Blind, Half-Face Study comparing topical vitamin C and vehicle for rejuvenation of photodamage. *Dermatol Surg* **28** (3), 231–236. <https://doi.org/10.1046/j.1524-4725.2002.01129.x>

Forbat E, Al-Niaimi F, Ali FR (2017) Use of nicotinamide in dermatology. *Clin and Exp Dermatol* **42** (2), 137–144. <https://doi.org/10.1111/ced.13021>

Grosser T, Smyth E, FitzGerald GA (2015) Anti-inflammatory, Antipyretic, and Analgesic Agents; Pharmacotherapy of Gout. U: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC (ured.) *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 12. izd., McGraw-Hill Education: New York, NY, SAD, str. 959-1005

Holmes HN, Corbet RE (1937) The isolation of crystalline vitamin A1. *J Am Chem Soc* **59** (10), 2042–2047. <https://doi.org/10.1021/ja01289a075>

Isolation of vitamin A. (1932) *Nature* **129** (3246), 88. <https://doi.org/10.1038/129088d0>

Juncan AM, Moisă DG, Santini A, Morgovan C, Rus L, Vonica-Țincu AL i sur. (2021) Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals. *Molecules* **26** (15), 4429. <https://doi.org/10.3390/molecules26154429>

L'Oreal (2024) Annual report – beauty market. L'Oreal finance, <https://www.loreal-finance.com/en/annual-report-2023/beauty-market/> Pristupljeno 31. kolovoza 2024.

Lapčík L, Lapčík L, De Smedt S, Demeester J, Chabreček P (1998) Hyaluronan: Preparation, structure, properties, and applications. *Chem Rev* **98** (8), 2663–2684. <https://doi.org/10.1021/cr941199z>

Li J, Qiao M, Ji Y, Lin L, Zhang X, Linhardt RJ (2020) Chemical, enzymatic and biological synthesis of hyaluronic acids. *Int J Biol Macromol* **152**, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.214>

Liu L, Liu Y, Li J, Du G, Chen J (2011) Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microb Cell Fact* **10** (1). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-99>

Mohammad O, Onwudili JA, Yuan Q (2023b) A critical review of the production of hydroxyaromatic carboxylic acids as a sustainable method for chemical utilisation and fixation

of CO₂. *RSC Sustainability* **1** (3), 404–417. <https://doi.org/10.1039/d2su00105e>

Mukherjee S, Date A, Patravale V, Korting HC, Roeder A, Weindl G (2006) Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Interv Aging* **1** (4), 327–348. <https://doi.org/10.2147/ciia.2006.1.4.327>

National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 338, Salicylic Acid. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Salicylic-Acid>. Pristupljeno 26. kolovoza 2024.

Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J (2008) Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Vet Med - Czech* **53** (8), 397–411. <https://doi.org/10.17221/1930-vetmed>

Nielsen SS (2010) Food Analysis, 4. izd., Food Science Text Series, Springer, SAD, str. 184.

Parker GL, Smith LK, Baxendale IR (2016) Development of the industrial synthesis of vitamin A. *Tetrahedron* **72** (13), 1645–1652. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.02.029>

Polcz ME, Barbul A (2019) The role of vitamin A in wound healing. *Nutr Clin Pract* **34** (5), 695–700. <https://doi.org/10.1002/ncp.10376>

Rolewski SL (2003) Clinical review: topical retinoids. *Dermatol Nurs* **15** (5), 447–465.

Salih ARC, Farooqi HMU, Amin H, Karn PR, Meghani N, Nagendran S (2024b) Hyaluronic acid: comprehensive review of a multifunctional biopolymer. *Futur J Pharm Sci* **10** (1). <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00636-y>

Segall AI, Moyano MA (2008) Stability of vitamin C derivatives in topical formulations containing lipoic acid, vitamins A and E. *Int J Cosmetic Sci* **30** (6), 453–458. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2008.00473.x>

Serra M, Casas A, Toubarro D, Barros AN, Teixeira JA (2023b) Microbial Hyaluronic Acid Production: A review. *Molecules* **28** (5), 2084. <https://doi.org/10.3390/molecules28052084>

Shalita AR, Smith JG, Parish LC, Sofman MS, Chalker DK (1995) Topical nicotinamide compared with clindamycin gel in the treatment of inflammatory acne vulgaris. *Int J Dermatol* **34** (6), 434–437. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1995.tb04449.x>

Soma Y, Kashima M, Imaizumi A, Takahama H, Kawakami T, Mizoguchi M (2004) Moisturizing effects of topical nicotinamide on atopic dry skin. *Int J Dermatol* **44** (3), 197–202. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2004.02375.x>

Susa F, Pisano R (2023b) Advances in Ascorbic Acid (Vitamin C) Manufacturing: Green Extraction Techniques from Natural Sources. *Processes* **11** (11), 3167.

<https://doi.org/10.3390/pr11113167>

Ucm R, Aem M, Lhb Z, Kumar V, Taherzadeh MJ, Garlapati VK i sur. (2022c) Comprehensive review on biotechnological production of hyaluronic acid: status, innovation, market and applications. *Bioengineered* **13** (4), 9645–9661.

<https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2057760>

Vahlquist A (1999) What are natural retinoids? *Dermatology* **199** (1), 3–11.

<https://doi.org/10.1159/000051371>

Vandamme EJ (1992) Production of vitamins, coenzymes and related biochemicals by biotechnological processes. *J Chem Technol Biot* **53** (4), 313–327.

<https://doi.org/10.1002/jctb.280530402>

Varani J, Warner RL, Gharaee-Kermani M, Phan SH, Kang S, Chung JH i sur. (2000) Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated Collagen-Degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. *J Invest Dermatol* **114** (3), 480–486. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00902.x>

Varga I, Božić Luburić Đ, Sikimun Kolanović B, Varenina I, Bilandžić N (2018) Salicilna kiselina – lijek s različitim ljekovitim svojstvima. *Vet stranica* **49** 413-422

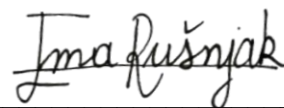
Yeoh SC, Goh CF (2021) Topical delivery of salicylates. *Drug Deliv Transl Re* **12** (5), 981–1001. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00988-5>

Zasada, M, Budzisz E (2019) Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. *Advances in Dermatology and Allergology* **36** (4), 392–397. <https://doi.org/10.5114/ada.2019.87443>

Zinder R, Cooley R, Vlad LG, Molnar JA (2019) Vitamin A and wound healing. *Nutr Clin Pract* **34** (6), 839–849. <https://doi.org/10.1002/ncp.10420>

Izjava o izvornosti

Ja, Ema Rušnjak, izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Handwritten signature of Ema Rušnjak in black ink, written in a cursive style.

Vlastoručni potpis