

Antihyperpigmentacijski učinak alga i njihovih metabolita

Canjuga, Marija

Postgraduate specialist thesis / Završni specijalistički

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:686516>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Marija Canjuga
ANTIHIPERPIGMENTACIJSKI UČINAK ALGA I NJIHOVIH METABOLITA
Specijalistički rad

Zagreb, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Marija Canjuga
ANTIHIPERPIGMENTACIJSKI UČINAK ALGA I NJIHOVIH METABOLITA
Specijalistički rad

Zagreb, 2024.

Poslijediplomski specijalistički studij: Dermatofarmacija i kozmetologija

Mentor rada: Prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić

Specijalistički rad obranjen je dana _____ na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____
2. _____
3. _____

Rad ima _____ listova.

Specijalistički rad je izrađen pod vodstvom prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić, na Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

SAŽETAK

Cilj istraživanja

Na modernom tržištu kozmetičkih pripravaka raste potražnja za prirodnim kozmetičkim proizvodima, a sukladno tomu raste i potreba za učinkovitim i prirodnim sastojcima. Na tom polju alge sa svojim brojnim biološkim učincima predstavljaju potencijalno bogat izvor metabolita s potencijalnim pozitivnim učinkom na kožu. Neki od metabolita alga djeluju anihiperpigmentacijski te se smatra da bi alge i produkti izolirani iz njih mogli pronaći svoje mjesto u sastavu pripravaka za izbjeljivanje kože. Stoga, cilj ovog rada bio je proučiti antihiperpigmentacijski učinak alga i njihovih metabolita te procijeniti njihovu vrijednost kao izvora novih aktivnih tvari za kozmetičke pripravke.

Materijal i metode

Glavna baza za pretraživanje studija za rad je bila elektronička baza PubMed. Studije su pretražene na temelju kombinacije pojmova *algae*, *seaweed*, *tyrosinase*, *pigmentation*, *hyperpigmentation*, *melanogenesis*, *skin-whitening*, i drugih povezanih osnovnim logičkim operatorima AND, OR i NOT. U rad su uvrštene studije koje su istraživale anihiperpigmentacijski učinak ekstrakata alga i njihovih metabolita na *in vitro*, *in vivo* te *ex vivo* modelima kao i kliničke studije. Odabir znanstvenih radova je bio ograničen na one objavljene na engleskom jeziku. Radovi su bili odabrani neovisno o datumu njihove objave.

Rezultati

Radom obuhvaćene studije pokazale su da su ekstrakti i metaboliti alga učinkoviti u topikalnom tretmanu hiperpigmentacija kože. Većina studija opisuje učinak ekstrakata smeđih alga, dok su studije zelenih alga, crvenih i modrozelenih alga manje zastupljene. Uz navedeno, opisan je učinak fukoidana i drugih sulfatiranih polisaharida kao aktivnih metabolita, obrađene su i studije s polifenolima kao i drugim metabolitima alga koji su dali određene pozitivne rezultate. Ti rezultati su očitovani kao inhibicija slobodne ili stanične tirozinaze, učinak izbjeljivanja na *in vivo* modelima poput zebrica ili na dobrovoljcima. Uz navedene rezultate uključene su i studije koje su ukazala ne dobar protuupalni, UV-protektivni i antioksidacijski učinak ispitivanih metabolita i ekstrakata alga koji bi u posretno mogli utjecati na hiperpigmentacije. Po učinkovitosti i brojnosti provedenih studija su se istaknuli ekstrakti smeđih alga, te njihov metabolit fukoidan.

Zaključak

Ekstrakti i metaboliti alga obuhvaćeni ovim radom pokazali su značajno antihiperpigmentacijsko djelovanje. Po djelotvornosti su se istaknuli ekstrakti smeđih alga i metabolit fukoidan, koji je karakterističan za smeđe alge. Unatoč tomu, potrebna su dodatna preciznije definirana ispitivanja uz dugoročno praćenje pacijenata, koja bi pridonijela boljem uvidu u učinkovitost i sigurnost primjene pojedinih ekstrakata i metabolita alga.

SUMMARY

Objectives

In the modern market of cosmetic preparations, the demand for natural products is growing, in line with the growth and the need for effective and natural ingredients. In this field, algae with their numerous effects represent a potentially rich source of metabolites with a potentially positive effect on the skin. One of the effects of algal metabolites is the antipigmentation activity, and it is believed that algae and products isolated from them could find their place in the composition of whitening cosmetic preparations. Therefore, the aim of this work was to examine the antihyperpigmentation effect of algae and their metabolites and to evaluate their value as a source of new active substances for cosmetic preparations.

Material and Methods

The main database for searching studies for the paper was the electronic database PubMed. Studies were searched based on a combination of the terms algae, seaweed, tyrosinase, pigmentation, hyperpigmentation, melanogenesis, skin-whitening, and others connected by the basic logical operators AND, OR and NOT. The work included studies investigating the antihyperpigmentation effect of algae extracts and their metabolites on *in vitro*, *in vivo* and *ex vivo* models, as well as clinical studies. The selection of scientific papers was limited to those published in English. The studies were selected regardless of the date of their publication.

Results

The studies included in this work have shown that algal extracts and metabolites are effective in the topical treatment of skin hyperpigmentation. Most studies describe the effect of brown algae extracts, while studies of green algae, red algae, and blue-green algae are less prevalent. In addition, the effect of fucoxanthin and other sulfated polyphenols as active metabolites is described. Furthermore, the work provides studies with polyphenols as well as other algal metabolites. Positive results observed in the studies were manifested as inhibition of free or cellular tyrosinase, a bleaching effect on *in vivo* models such as zebrafish or on volunteers. In addition to these results, studies good anti-inflammatory, UV-protective and antioxidant effect of the investigated metabolites and algal extracts, which could positively

affect hyperpigmentation. By the effectiveness and number of conducted studies, most notable results were displayed by brown algae extracts and their metabolite fucoidan.

Conclusion

Algae extracts and metabolites included in this work showed significant anti-hyperpigmentation activity. Extracts from brown algae and the metabolite fucoidan, which is characteristic for brown algae, stood out for their effectiveness. Despite this, additional more precisely defined tests with long-term follow-up of patients are needed, which would contribute to a better insight into the effectiveness and safety of the use of individual extracts and algal metabolites.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1. ULOGA I GRAĐA KOŽE	1
1.2. MELANOGENEZA	2
1.3. METODE ISPITIVANJA INHIBICIJE MELANOGENEZE	4
1.4. ALGE	5
1. CILJ ISTRAŽIVANJA	7
2. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI	8
2.1. PRETRAGA BAZA PODATAKA I ODABIR STUDIJA	8
2.2. EKSTRAKTI ALGA	8
2.3. METABOLITI ALGA	18
3. RASPRAVA	27
4. ZAKLJUČAK	30
5. LITERATURA	31
6. ŽIVOTOPIS	37

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Hiperpigmentacije predstavljaju neugodan estetski problem u modernoj kulturi. Istodobno, u kozmetičkoj industriji povećan je interes za proizvodnjom pripravaka koji su ne samo učinkoviti, nego i sigurni kako za korisnike tako i za okoliš. Stoga raste potreba za pronalaženjem novih antihiperpigmentacijskih sastojaka prirodnog podrijetla. Premda su alge u Aziji tradicionalno korištene u prehrani i kao sirovina za proizvodnju ljekovitih pripravaka, u zapadnim zemljama se tek u novije vrijeme budi interes za njihovu primjenom. Jedna od mogućnosti je iskorištavanje alga i njihovih metabolita kao izvora aktivnih tvari za izradu kozmetičkih pripravaka sa specifičnim učincima - primjerice u kozmetici s antihiperpigmentacijskim učinkom (1, 2).

1.1. ULOGA I GRAĐA KOŽE

Koža predstavlja najveći organ tijela te ima brojne uloge. Osnovne uloge kože su zaštita unutarnjih organa od vanjskih utjecaja, termoregulacija, osjet opipa, sinteza vitamina D, imunološki nadzor i izgled (3). Građena je od tri sloja: epidermis, dermis i hipodermis (Slika 1). Epidermis je vanjski sloj kože. On sprječava gubitak vode, otporan je na mehanička i kemijska oštećenja, štiti od infekcija bakterijama, virusima i parazitima, te štiti od ultraljubičastog zračenja (4). Građen je od četiri glavna tipa stanica različitih funkcija. Spomenuta četiri tipa stanica su:

- Keratinociti (stanice kože)
- Melanociti (pigmentne stanice)
- Langerhansove stanice (imunološke stanice)
- Merkelove stanice (osjetne stanice)

Stanice epidermisa raspoređene su četiri različita sloja:

- Stratum basale
- Stratum spinosum
- Stratum granulosum
- Stratum corneum (gornji sloj kože)

Uz njih, na debljim dijelovima kože, kao što su tabani, nalazi se i stratum lucidum smješten izravno ispod stratum corneuma. Epidermis je također i sloj kože s kožnim

privjescima kao što su folikuli dlaka, žlijezde lojnice i znojnice te nokti. Epidermis i dermis dijeli bazalna membrana (3).

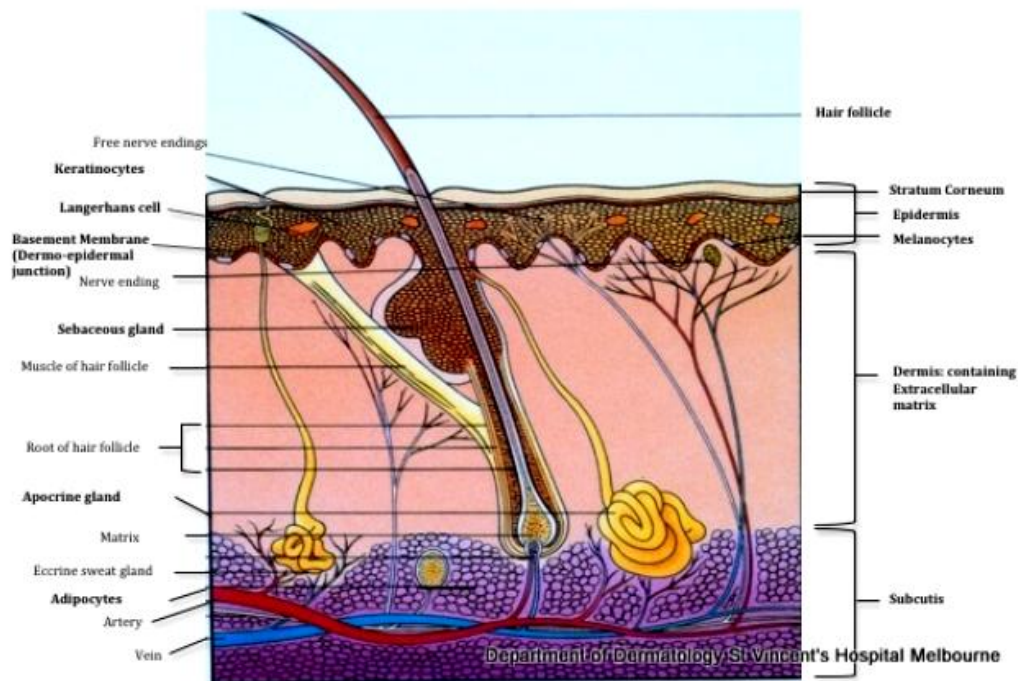


Image reproduced with permission of Department of Dermatology St Vincent's Hospital Melbourne

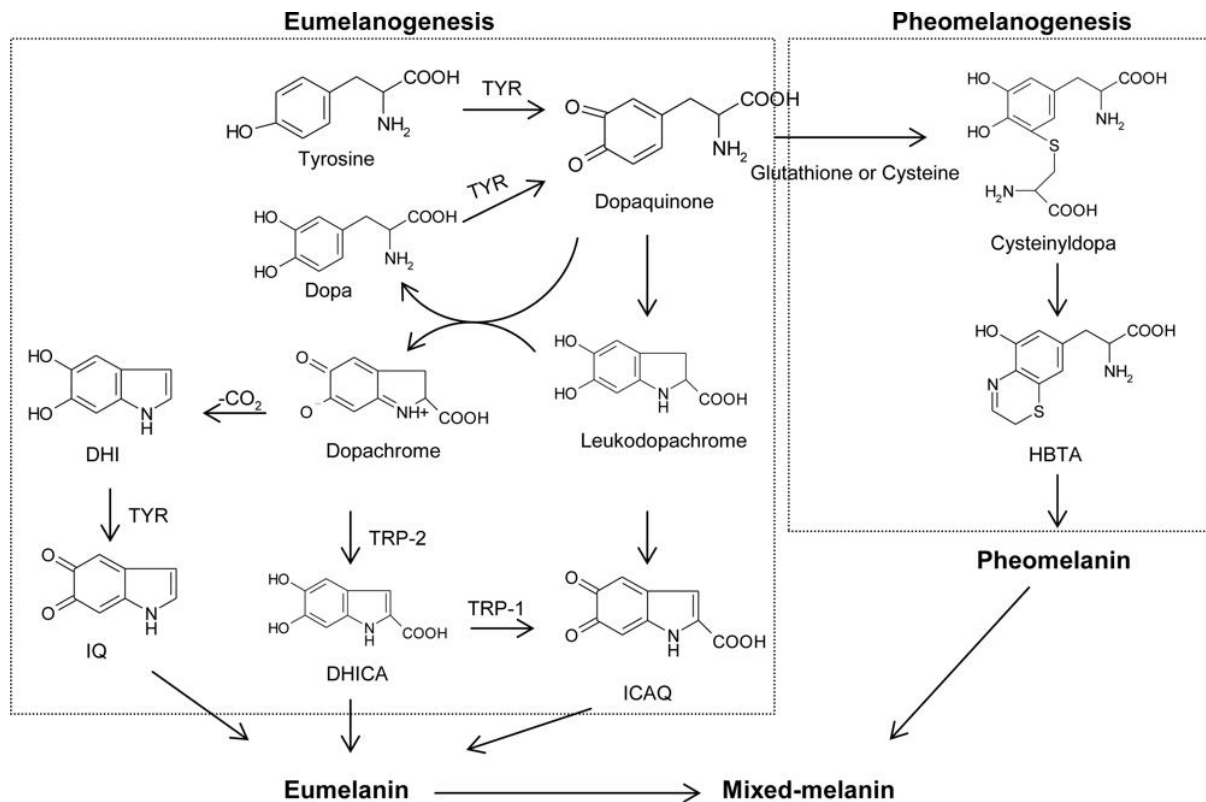
Slika 1. Građa kože (preuzeto s <https://www.dermcoll.edu.au/atoz/skin-structure-function/>)

Dermis je sloj kože koji se nalazi ispod epidermisa, a od njega je deblji 20 do 30 puta. Sastoji se od guste mreže proteinskih vlakana kolagena i elastina te glikozaminoglikana. Oni zajedno čine ekstracelularni matriks te daju snagu i elastičnost dermisu. Unutar ekstracelularnog matriksa nalaze se krvne i limfne žile, stanice imunskog sustava, živci, donji dijelovi folikula dlaka i znojnih žlijezda (3, 4). Hipodermis se nalazi ispod dermisa te sadržava mrežu kolagenih vlakana i masnih stanica (adipocita). On štiti tijelo od vanjskih trauma i hladnoće. Također sadržava krvne i limfne žile (2).

1.2. MELANOGENEZA

Melanin je pigment koji određuje boju kože te ima bitnu ulogu u zaštiti kože od štetnog UV zračenja. Melanin je uključen i u stvaranje abnormalnih pigmentacija i melanoma. On se stvara u melanocitima koji se nalaze između bazalnih keratinocita te zajedno formiraju epidermalnu melaninsku jedinicu. Melanociti su stanice podrijetlom iz neuralnog grebena, a migriraju u kožu i folikule dlaka oko trećeg fetalnog mjeseca.

Njihov broj ovisi o lokalizaciji na koži. Najviše se melanocita nalazi u koži lica i genitalne regije. Svi melanociti sadržavaju enzim tirozinazu i stvaraju melanin procesom melanogeneze (Slika 2), ali samo melanociti u koži mogu prenositi melanin u druge stanice (5).



Slika 2. Sinteza eumelanina i feomelanina (preuzeto s <https://www.mdpi.com/1422-0067/10/6/2440>)

Enzim tirozinaza ključan je za stvaranje melanina. Sinteza se odvija u endoplazmatskom retikulumu pri čemu dolazi do formiranja mjehurića koji se nazivaju melanosomima. Tirozinaza katalizira hidroksilaciju L-tirozina do 3,4-dihidroksifenilalanina (DOPA) te oksidaciju DOPA oksidaciju do dopakinona. Dopakinon zatim prelazi u leukokrom, DOPA krom, 5,6-dihidroksiindol i indol-5,6-kinon. U idućoj fazi dolazi do polimerizacije i stvaranja triju tipova melanina: eumelanina, feomelanina i trikroma. Eumelanin daje smeđu i crnu boju, feomelanin daje crvenu i žutu boju, a trikrom intenzivno crvenu boju. Melanociti zatim putem svojih dendrita predaju melanosome okolnim keratinocitima. Melanogenezu stimulira hormon hipofize MSH (eng. *melanocyte-stimulating hormone*). Boja kože ovisi o aktivnosti melanocita, tipu melanosoma i distribuciji melanina u koži. UV zračenje uzrokuje proliferaciju i aktivaciju melanocita te to dovodi do tamnjenja kože. Kao uzrok

nekontroliranog tamnjenja kože nastaju hiperpigmentacije. Poremećaji pigmentacije mogu biti nasljedni i stečeni, hipopigmentacije, amelanoze ili hiperpigmentacije, a po lokalizaciji se dijele na generalizirane (difuzne), lokalizirane ili retikularne pigmentacije. Do njih dolazi zbog promjene broja melanocita ili funkcionalnih smetnji pri stvaranju, sazrijevanju, sekreciji ili transportu melanosoma. Nastanku hiperpigmentacija mogu pogodovati različiti oksidativni i upalni procesi te fiziološki procesi i stanja poput starenja ili trudnoće (5).

1.3. METODE ISPITIVANJA INHIBICIJE MELANOGENEZE

Tradicionalna sredstva za depigmentaciju kao što su hidrokinon i kortikosteroidi, iako vrlo učinkovita, dugotrajnom primjenom mogu izazvati određene nuspojave uključujući egzogenu kronozu, atrofiju, karcinogenezu i lokalne i sistemske neželjene učinke. Zbog percepcije o sigurnosti i učinkovitosti, pacijenti su sve skloniji primjenjivati pripravke s prirodnim aktivnim sastavnicama. Sukladno tomu, raste broj znanstvenih istraživanja utjecaja prirodnih produkata na melanogenezu (6).

Kako bi se ispitao antihiperpigmentirajući potencijal određenog metabolita ili ekstrakta koriste se različite metode ispitivanja. S obzirom na središnju ulogu tirozinaze u sintezi melanina, kao i jednostavnost izvedbe inhibicija tirozinaze je najčešće korištena metoda je ispitivanje inhibicije melanogeneze. Iako sposobnost ekstrakata i metabolita da inhibiraju tirozinazu gljiva ne odgovara uvijek *in vivo* rezultatima depigmentacije, inhibitori tirozinaze mogu biti atraktivni u kozmetičkoj i medicinskoj industriji kao sredstva za depigmentaciju. Tirozinaze su enzimi s nekoliko atoma bakra koji je široko rasprostranjen u različitim organizmima i igra važnu ulogu u melanogenezi. Međutim, među različitim izvorima tirozinaze, tirozinaza iz gljive *Agaricus bisporus* najčešće se koristi u ispitivanju melanogeneze jer ima visoku sličnost s ljudskom tirozinazom. Zbog svojih strukturnih, funkcionalnih i biokemijskih značajki tirozinaza gljiva do sada su opsežno proučavane kao modelni sustav za ispitivanje inhibicije melanogeneze (7).

Jedan od novijih modela je ispitivanje utjecaja na ekstrakte i metabolite faktor 1 izveden iz stromalnih stanica (eng. *stromal cell-derived factor 1*, SDF-1). Spomenuti protein eksprimiraju papilarni dermalni fibroblasti te je uključen u nastajanje pigmentacija. On inhibira cAMP signalni put u melanocitima iz bazalnog sloja te tako negativno utječe na transkripciju MITF (eng. *microphthalmia-associated transcription factor*). MITF regulira diferencijaciju i razvoj melanocita i retinalnog pigmentnog epitela

te je također odgovoran za transkripciju gena enzima melanogeneze specifičnih za pigmentne stanice. Ujedno je uočeno da je ekspresija SDF-1 značajno smanjena u senescentnim fibroblastima što ga čini dobrim ciljnim proteinom za tretiranje senilnog lentiga (8).

Nešto višu razinu vrijednosti dokaza ima model inhibicije melanogeneze na modelu B16 mišjih staničnih linija melanoma. B16 melanom je stanična linija mišjih tumora koja se koristi za istraživanje kao model za rak ljudske kože. Ispitivanja na njoj pobliže opisuju utjecaj uzorka na melanocite, tj. stanice (9). Ispitivane metabolite i ekstrakte koji daju povoljne rezultate na navedenim ispitivanjima, opravdano je ispitati i na modelu zebrica. Zebrica, riba poznata po svojim prozirnim embrijima, predstavlja veoma dobar model za *in vivo* ispitivanja melanogeneze zbog svoje genetičke, fiziološke i anatomske sličnosti sa sisavcima. Ujedno se koriste za ispitivanje toksičnosti pojedinih tvari. Zebrice se stoga ističu kao ključni model za studije pigmentacije kože (10).

Hipigmentacija kože je najčešće posljedica izlaganja sunčevom svjetlu, ali može biti i posljedica upalnih procesa na koži. Stoga ispitivanja protuupalnog i fotoprotektivnog učinka određenih metabolita i pružaju neizravni dokaz antihiperpigmentirajućeg djelovanja . ekstrakata (11).

1.4. ALGE

Alge su vodeni fotosintetski organizmi iz carstva *Protista*. Navedeno znači da su to eukariotski organizmi (nose jezgru) koji fotosintetiziraju, ali nemaju specijalizirane višestanične reproduktivne strukture biljaka, kao niti pravo korijenje, stabiljke i lišće. Uključuju vrlo raznolike organizme od gigantskih do jednostaničnih. Alge se tradicionalno dijele u skupine prema boji, tj. prema skupinama pigmenata koji su sadržani u njihovim kloroplastima. Prema tome ih dijelimo na zelene (*Chlorophyta*), smeđe (*Phaeophyta*) i crvene alge (*Rhodophyta*). Cijanobakterije (*Cyanophyta*), starijeg naziva modrozeleno alge, su prokarioti (nemaju jezgru) te u užem smislu riječi ne spadaju u alge. Ipak, zbog okoliša koji nastanjuju i mogućnosti fotosinteze, često se promatraju s algama (12,13).

Alge nisu evolucijski blisko povezane, te se ponekad čini da su bliže protozoama i gljivama, nego drugim algama. Veoma su raznolika skupina te ih u prirodi nalazimo u veličinama od mikroskopskih do divovskih oblika. Njihovi fotosintetski pigmenti

raznolikiji su nego kod biljaka, a njihove stanice imaju značajke koje nemaju stanice biljaka i životinja. Osim njihove uloge proizvođača kisika i osnovne hrane za neke morske organizme, alge su značajne kao izvor brojnih industrijskih proizvoda, te kao izvor hrane za ljude i sirovina za farmaceutsku proizvodnju (13).

Alge, kao autotrofni organizmi, same proizvode primarne metabolite, hranjive tvari (npr. proteine, ugljikohidrate itd.) nužne za svoj opstanak, i što ih čini pogodnim sirovinama za proizvodnju hrane. Osim toga, alge su bogat izvor sekundarnih metabolita poput terpenoida, pigmenata i polifenola koji imaju biološka svojstva prikladna za razvoj dodataka prehrani i nutrizivnih proizvoda. Mnogi među njima mogu djelovati kao antibakterijski, antivirusni, antioksidativni i protuupalni spojevi. Stoga se alge mogu smatrati prirodnim izvorom bioaktivnih molekula za prehrambenu, kozmetičku i farmaceutsku industriju (14).

1. CILJ ISTRAŽIVANJA

Kožne hiperpigmentacije predstavljaju značajan estetski problem. Zlatni standard terapije je dugo bio hidrokinon, ali on nije pogodan za dugoročno korištenje zbog neželjenog profila nuspojava. Stoga na modernom tržištu kozmetičkih pripravaka raste potražnja za novim učinkovitim sastojcima, s posebnim naglaskom na one prirodnog porijekla. Na tom polju alge sa svojim brojnim učincima predstavljaju potencijalno bogat izvor metabolita. Jedan od učinaka metabolita alga je antihiperpigmentacijski učinak te se smatra da bi alge i produkti izolirani iz njih mogli pronaći svoje mjesto u sastavu pripravaka za izbjeljivanje hiperpigmentacijskih mrlja. Stoga je cilj ovog rada proučiti antihiperpigmentacijski učinak alga i njihovih metabolita, i procijeniti njihovu vrijednost kao izvora novih aktivnih tvari za kozmetičke pripravke.

2. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

2.1. PRETRAGA BAZA PODATAKA I ODABIR STUDIJA

U svrhu pisanja specijalističko rada za pretraživanje studija korištena je elektronička baza PubMed. Studije su pretražene na temelju skupa pojmova: (algae[Title/Abstract] OR algal[Title/Abstract] OR seaweed[Title/Abstract] OR microalgal[Title/Abstract] OR microalgae[Title/Abstract]) AND ((tyrosinase[Title/Abstract] OR pigmentation[Title/Abstract] OR melanogenic[Title/Abstract] OR whitening[Title/Abstract] OR "skin-whitening"[Title/Abstract] OR hyperpigmentation[Title/Abstract] OR melanogenesis[Title/Abstract] OR melanin[Title/Abstract] OR melanocyte[Title/Abstract]). Nadalje, kako bi se osigurala cjelovitost potrage, za svaku od alga koje su pokazale učinak na hiperpigmentacijske poremećaje kože u studijama obuhvaćenim prethodnim odabirom ponovljena je prethodna potraga, ali s uključenim imenom te alge. Pretraživanjem referenci već odabranih studija, u rad su uključene dodatne studije. U rad su uvrštene studije koje su istraživale antihiperpigmentacijski učinak ekstrakata alga i njihovih metabolita na *in vitro*, *in vivo* te *ex vivo* modelima kao i kliničke studije. Dodatno, u rad su uključene studije koje su se posredno odnositi na antihiperpigmentacijski učinak putem inhibicije UV zračenja ili protuupalnog učinka. Uključeni su radovi imali dostupne cjelovite tekstove ili iznimno sažetke.

2.2. EKSTRAKTI ALGA

Najveći broj studija uključenih u rad odnosio se na smeđe alge. Među studijama se obimom i brojem uključenih vrsta ističe ona koju su proveli Cha i sur. Oni su proveli istraživanje na 43 vrste morskih alga s ciljem dokazivanja njihovog inhibitornog učinka na aktivnost tirozinaze i sintezu melanina. Studija je provedena na sljedećim algama: *Gracilaria verrucosa*, *Grateloupia elliptica*, *Grateloupia lanceolata*, *Sinkoraena lancifolia*, *Grateloupia filicina*, *Capopeltis affinis*, *Laurencia okamurae*, *Chondria cassicaulis*, *Ahnfeltiopsis flabelliformis*, *Lomentaria catenata*, *Pterocliadiella capillacea*, *Prionitis cornea*, *Gloiopeltis furcata*, *Chondrophycus undulatus*, *Schizymenia dubyi*,

Gelidium amansii, *Lithophyllum okamurai*, *Chondrus crispus*, *Acrosorium flabellatum*, *Polysiphonia japonica* (Rhodophyta), *Codium contractum*, *Ulva conglobata*, *Ulva pertusa*, *Enteromorpha compressa*, *Monostroma nitidum* (Chlorophyta), *Dictyota dichotoma*, *Endarachne binghamiae*, *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiforme*, *Laminaria ochotensis*, *Sargassum thunbergii*, *Colpomenia sinuosa*, *Petrospongium rugosum*, *Sargassum horneri*, *Sargassum coreanum*, *Sargassum siliquastrum*, *Myagropsis myagroides*, *Padina arborescens*, *Sargassum piluliferum*, *Pachydictyon sp.*, *Scytosiphon lomentaria*, *Desmarestia tabacoides* i *Ecklonia cava* (Phaeophyta). Ekstrakti algi priređeni pri temperaturama od 20 °C odnosno 70 °C te je utvrđena koncentracija pri kojoj ekstrakti pokazuju 50% inhibicije enzima (IC₅₀). Među ispitivanim algama *E. binghamiae* (EB), *S. dubyi* (SD), *E. cava* (EC) i *S. siliquastrum* (SS) su pokazale bolju inhibitornu aktivnost od drugih vrsta te su korištene u daljnjim ispitivanjima. Među svim ekstraktima, ekstrakt SD priređen pri 20 °C najsnažnije je inhibirao tirozinazu s IC₅₀ 9,08 µg/mL. Snažan učinak pokazali su i ekstrakti EC i EB priređeni pri 70 °C, te SS priređen pri 20 °C (IC₅₀ vrijednosti bile su 18,00 µg/mL, 27,16 µg/mL i 19,85 µg/mL). Vrijednosti IC₅₀ pozitivnih kontrola, arbutina i kojične kiseline, iznosili su 13,86 i 1,21 µg/mL. Cha i sur. su daljnja istraživanja inhibitornog učinka na sintezu melanina proveli koristeći EC i SS zbog široke rasprostranjenosti Koreji. Najprije su pomoću MTT (3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol bromid) testa dokazali da ispitivane vrste alga nemaju inhibitorni utjecaj na rast stanica ispitivanjem u koncentracijama manjim od 100 µg/mL. Zatim je ispitivan njihov inhibitorni učinak na sintezu melanina na B16 staničnim linijama mišjih melanocita i zebričama. Vrijednosti IC₅₀ inhibicije sinteze melanina na B16 staničnim linijama za EC i SS su bile 58,65 µg/mL i 72,68 µg/mL, dok je za arbutin i kojičnu kiselinu IC₅₀ iznosio 37,37 µg/mL i 36,65 µg/mL (15).

Za *in vivo* ispitivanje inhibitornog učinka na tirozinazu i sintezu melanina Cha i sur. koristili su zebričice. Primjećeno je značajno smanjenje aktivnosti tirozinaze i ukupnog sadržaja melanina nakon tretmana ekstraktima algi. Spoj 1-fenil-2-tiourea (PTU) korišten je kao pozitivna kontrola te je smanjio aktivnost tirozinaze za 69 % i ukupni sadržaj melanina za 72 %, dok je arbutin smanjio aktivnost tirozinaze 57 % i ukupni sadržaj melanina 61 %. Ekstrakti EC i SS su također smanjili aktivnost tirozinaze za 48 % i 50 %, te ukupni sadržaj melanina za 43 % i 50 %. PTU i arbutin dokazali su značajnu inhibiciju pigmentacije trupa i žumanjčane vrećice. Kod EC i SS, količina melanina na površini trupa smanjila se na način ovisan o dozi, a pigmentacija žumanjčane vrećice bila je snažno inhibirana (15). S obzirom da se kozmetički proizvodi

primjenjuju svakodnevno, promatran je uzorak rasta zebrice pod utjecajem navedenih melanogenih inhibitora. Za procjenu toksičnosti uzoraka promatrana je smrtnost embrija, morfološke malformacije i poremećaji otkucaja srca. Navedeni melanogeni inhibitori u ovom ispitivanju nisu uzrokovali povećanje smrtnosti zebrica, niti stvaranje morfoloških malformacija. PTU i arbutin su izazvali poremećaje u radu srca zebrica, dok ekstrakti algi nisu imali taj učinak, odnosno zebrice su se nastavile razvijati u prisutnosti ekstrakata. Pod utjecajem PTU-a sve zebrice su uginule nakon trećeg dana, one tretirane arbutinom su imale stopu preživljavanja od oko 40%, dok su one tretirane algama imale stopu preživljavanja od oko 80 % (15).

Quah i sur. ispitivali su inhibitornu aktivnost ekstrakata vrsta *Sargassum polycystum* i *Padina tenuis* na tirozinazu gljiva, kao i njihovu citotoksičnost prema ljudskim epidermalnim melanocitima (eng. *human epidermal melanocytes*, HEM) i Changovim stanicama. HEM proizvode melanin i služe kao koristan stanični model za ispitivanje proliferacije i diferencijacije melanocita, kao i progresije melanocitne neoplazije. Chang stanice su derivat HeLa stanica te su u ovom ispitivanju poslužile kao primjer normalnih stanica. Ekstrakti su zatim uklopljeni u kreme i testirani na zamorcima u testovima dermalne iritacije procjenama depigmentacije. Ekstrakti algi su priređeni frakcioniranjem pomoću nekoliko otapala, *S. Polycystum* heksanska frakcija (SPHF), *S. polycystum* etanolni ekstrakt (SPET) i *P. tenuis* heksanska frakcija (PTHF). Dokazana je njihova veća citotoksičnost na HEM stanice nego na Chang stanice čime je dokazana selektivnost djelovanja. Vrijednosti IC_{50} koje su SPET, SPHF i PTHF pokazali na HEM stanicama iznosili su redom 36,00 $\mu\text{g/mL}$, 65,00 $\mu\text{g/mL}$ i 76,5 $\mu\text{g/mL}$. Te vrijednosti citotoksičnosti bile su puno manje u Chang stanicama. Stoga su od tih vrsta algi napravljene kreme za daljnja *in vivo* ispitivanja. Ispitivan je također njihov učinak inhibicije na tirozinazu gljiva, no on nije bio značajan, a u većim koncentracijama imali su čak i stimulativni učinak. Za *in vivo* ispitivanja pripremljene su kreme s navedenim ekstraktima te su zamorcima inducirane hiperpigmentacije izlaganjem UVB zračenju kroz tri tjedna. Tijekom tog vremena ispitivane kreme su aplicirane na izložena mjesta uz kontrolu (bazna krema) dva puta tjedno. Fontana-Massonovo bojanje je dokazalo da se količina melanina kod ispitivanih skupina smanjila u odnosu na kontrolu. Također, primjena ispitivanih ekstrakata nije izazvala kožne iritacije u zamoraca (16).

Chan i sur. ispitivali su antimelanogeni učinak etanolnog ekstrakta vrste *Sargassum polycystum*, te njegove heksanske, etil acetatne i vodene frakcije. Ispitivanja su provedena na modelima tirozinaze gljiva, na B16F10 stanicama melanoma, miša te je

provedeno ispitivanje staničnog preživljavanja. Na modelu tirozinaze gljiva nisu dobiveni značajni rezultati, no na modelu B16F10 stanica došlo je do smanjenja aktivnosti stanične tirozinaze na način ovisan o dozi. U ispitivanju staničnog preživljavanja pomoću MTT testa heksanska frakcija, etanolni ekstrakt i vodena frakcija nisu pokazali značajni citotoksični učinak, a etil acetatna frakcija je pokazala veći citotoksični učinak. Ispitivanje je nastavljeno s heksanskom frakcijom zbog njene učinkovitosti i sigurnosti. Kojična kiselina je korištena kao pozitivna kontrola. Ona je drastično smanjila aktivnost tirozinaze gljiva. Međutim, kada je testirana na staničnoj tirozinazi, inhibicijski učinak je bio manji i usporediv s učinkom ispitivanih ekstrakata i frakcija. Antimelanogeni učinak heksanske frakcije *S. polycystum* (SPHF) ispitivan je na stanicama B16F10 sa i bez stimulacije hormonom koji stimulira α -melanocyte (eng. *alpha-melanocyte-stimulating hormone*, α -MSH). SPHF je smanjio stanični sadržaj melanina u B16F10 stanicama u odsutnosti α -MSH stimulacije i to za 15 %, 13 %, 28,71 % i 39,93 % pri 100 g/mL, 250 g/mL, odnosno 500 g/mL. Kojična kiselina je u istim dozama smanjila staničnu proizvodnju melanina. U α -MSH-stimuliranim B16F10 stanicama SPHF je značajno smanjio aktivnost tirozinaze na način ovisan o dozi. Došlo je do smanjenja aktivnosti za 31,85 %, 39,57 % i 54,41 % pri koncentracijama od 100 g/mL, 250 g/mL i 500 g/mL. Kojična kiselina je u istim dozama pokazala usporediv učinak (17).

Kako bi pronašli učinkovitu vrstu za tretiranje kožnih hiperpigmentacija Meunier i sur. su ispitivali utjecaj vodenog ekstrakta *Himanthalia elongata* (HEX) na SDF-1. SDF-1 je u ispitivanju predstavljao ključnog regulatora hiperpigmentacije te je njegova ekspresija bila smanjena u senescentnim fibroblastima. Razvijen je *ex vivo* model senilnog lentiga i solarnog lentiga. Fontana-Masson bojanjem i SDF-1 imunobojanjem dokazano je da inhibicija SDF-1-a uzrokuje hiperpigmentacije kože. Nakon pet dana tretiranja modela senilnog lentiga 3 %-tnim HEX-om, povećana je ekspresija SDF-1 za 27 %. Na istom uzorku sadržaj melanina smanjio se za 51 %. Na modelu solarnog lentiga je nakon aplikacije HEX-a dokazano je povećanje ekspresije SDF-1-a od 38 %, te su hiperpigmentacije smanjene za 60 % zahvaljujući reaktivaciji ekspresije SDF-1. Ispitivanje je također paralelno proučavalo utjecaj UV zračenja kod solarnog lentiga na oksidiranost proteina. UV zračenje je povećalo sadržaj oksidiranih proteina za 24 %. Nakon pet dana topikalne primjene HEX-a smanjio se sadržaj oksidiranih proteina za 40 %. Ispitivanje je ujedno pokazalo da UV zračenje povećava sadržaj lipofuscinskih tjelešaca, žuto-smeđih pigmentnih granula u citoplazmi stanica zaostalih nakon

fagocitoze ostatnih staničnih organela, za 69 %. Pod utjecajem HEX njihov sadržaj se nakon 5 dana smanjio za 39 %. Navedeno govori i o značajnom *anti-age* učinku jer je taloženje lipofuscinskih tjelešaca marker starenja kože (18).

Mirata i sur. vrednovali su *anti-age* učinak i fotoprotektivni učinak alge *Ericaria amentacea*. Načinjeni su četiri ekstrakta, ekstrakt vrškova biljke ili talusa biljke, dobiveni korištenjem 50 %-tnog etanola ili dimetil sulfoksida (DMSO). Provedeno je ispitivanje anti-tirozinazne aktivnosti. Ekstrakti su testirani pri koncentraciji od 100 µg/mL DMSO ekstrakt vršaka pokazao je najveći postotak inhibicije (36 %), a slijedio ga je DMSO ekstrakt talusa (20 %). Etanolni ekstrakt vršaka je pokazao blagu inhibitornu aktivnost (12 %), a ekstrakt talusa je bio neučinkovit (19).

Kalasariya i sur. vrednovali su učinke etanolnog i metanolnog ekstrakta alge *Padina boergesenii* kako bi opisali njen potencijal kao kozmetičkog sastojka. U ispitivanju hvatanja DPPH radikala, etanolni ekstrakt je pokazao IC₅₀ od 36,75 µg/mL, dok je za metanolni ekstrakt IC₅₀ iznosio 42,784 µg/mL. Askorbinska kiselina, korištena kao referentni standard, pokazala je IC₅₀ vrijednosti od 9,87 µg/mL za etanolnu otopinu i 11,98 µg/mL za metanolnu otopinu. U ispitivanoj koncentraciji ekstrakti *P. boergesenii* inhibirali su tirozinazu od 62,14 %. Kojična kiselina, koja je korištena kao referentni standard, inhibirala je tirozinazu za 80,37 %. Rezultati studije upućuju na to da ekstrakti *P. boergesenii* posjeduju značajnu aktivnost inhibicije tog enzima (20).

Choosuwan i sur. su ispitali antimelanogeni učinak 12 etanolnih ekstrakata alga proučavajući njihov inhibitorni učinak na tirozinazu gljiva i sintezu melanina u B16F10 stanicama melanoma. Ispitivani su učinci etanolnih ekstrakata alga *Caulerpa racemosa*, *Ulva intestinalis* i *Lobophora challengeriae* na smanjenje sinteze melanina u B16F10 stanicama. Ekstrakti su smanjili razine melanina i intracelularne tirozinaze u stanicama B16F10 tretiranim α-MSH na način ovisan o dozi. Etanolni ekstrakti *C. racemosa* (33,71 %) i *L. challengeriae* (36,14 %) su pri 25 µg/mL su u ispitivanoj koncentraciji smanjili proizvodnju melanina usporedivo s kojičnom kiselinom (36,18 %). Etanolni ekstrakt *L. challengeriae* je pokazao jaču inhibiciju unutarstanične tirozinaze (46,30 %) od kojične kiseline (na 72,50 %). Najbolji učinak inhibicije tirozinaze gljiva pokazao je etanolni ekstrakt *Lobophora challengeriae* (*Phaeophyta*) (IC₅₀ = 0,15 ± 0,01 mg/mL) koji je bio učinkovitiji od kojične kiseline (IC₅₀ = 0.35 ± 0.05 mg/mL) (21).

Pekkoh i sur. su predložili ekološki prihvatljivu metodu biosinteze potpomognute mikrovalovima za proizvodnju nanočestica srebra obloženih vodenim ekstraktom *Sargassum sp.* (Ag/AgCl-NPs-ME). Nakon biosinteze provedena je karakterizacija

bioloških učinka priređenih čestica. Ispitivan je učinak inhibicije tirozinaze Ag/AgCl-NPs-ME unutar raspona koncentracija od 5 µg/mL do 25 µg/mL, te je dobiveno da iznosi od 22,64 % do 51,72 %, pokazujući učinak ovisan o dozi s IC₅₀ vrijednošću od 23,70 µg/mL. Antioksidativni potencijal Ag/AgCl-NPs-ME ispitan je DPPH metodom. Pri koncentracijama od 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL i 40 µg/mL, Ag/AgCl-NPs-ME pokazale su potencijal uklanjanja DPPH radikala od 9,68 %, 33,83 %, 51,17 %, 94,16 % i 100%. Za Ag/AgCl-NPs-ME vrijednost IC₅₀ iznosila je 14,49 µg/mL. Procjenjena je i aktivnost hvatanja radikala ABTS (2,2- azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline) za ispitivane čestice. S povećanjem koncentracija Ag/AgCl-NPs-ME od 10 µg/mL do 50 µg/mL, aktivnost hvatanja ABTS radikala pokazala je porast s 18,35 % na 58,30 %, što ukazuje na progresivni, o dozi ovisan, zaštitni učinak Ag/AgCl-NPs-ME čestica. U FRAP testu za nanočestice koncentracije od 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL i 50 µg/mL dobiveni su rezultati 1,78 µg Fe²⁺/mL, 7,30 µg Fe²⁺/mL, 11,78 µg Fe²⁺/mL, 16,59 µg Fe²⁺/mL i 22,55 µg Fe²⁺/mL. Svi navedeni učinci pripisani su vodenom ekstraktu *Sargassum sp.* kojim su sintetizirane nanočestice bile obložene (22).

Hameury i sur. su proveli sveobuhvatnu procjenu djelovanja na kožu spoja sastojaka morskog i primorskog podrijetla korištenjem kvantitativne proteomske analize bez oznake. Pripremljen je vodeni gel s 6,1 % sastojaka morskog i primorskog podrijetla. Sastojci su bili vodeni ekstrakt *Macrocystis pyrifera* obogaćen aminokiselinama, morska voda obogaćena elementima u tragovima i dediferencirane stanice morskog komorača (*Crithmum maritimum* L.). Gel je ispitan *in vitro* na eksplantatima ljudske kože. Topikalno je primjenjen u tri probe koje su inkubirane na 48 sati usporedno s tri slijepa probe. Proteom eksplantata kože analiziran je na način bez oznake tekućinskom nanokromatografijom visoke učinkovitosti u kombinaciji s tandemskom masenom spektrometrijom. Usporedbom sa slijepim probama zaključeno je da je 64 proteina bilo značajno regulirano gel tretmanom. Smanjena je ekspresija premelanosomnog proteina (eng. *premelanosome protein*, PMEL) iz melanosoma koji sudjeluje u sintezi i polimerizaciji melanina te je ujedno potreban za sazrijevanje melanosoma. Također je smanjena ekspresija i apolipoproteina E (eng. *apolipoprotein E*, ApoE) koji regulira stvaranje PMEL amiloidnih fibrila u endosomima i posljedično sazrijevanje melanosoma, unutar melanocita (23).

Kliničke studije s koje bi proučavale utjecaj algi i njihovih ekstrakata, iako relativno rijetke, u pravilu pokazuju pozitivne rezultate. Meunier i sur. su proveli *in vivo*

ispitivanje HEX uz placebo na pripadnicama sve tri rase. Kod bijele rase HEX je apliciran na pigmentne mrlje na rukama dva puta dnevno kroz 28 dana. Dokazano je smanjene sadržaja melanina za 103 % u hiperpigmentiranim mrljama u odnosu na placebo. Kod volontera žute rase ispitivanje je provedeno na koži lica. HEX je nakon 28 dana smanjio vidljive mrlje za 156 % u odnosu na placebo. Kod volontera crne rase ispitivanje je provedeno također na koži lica. Zamijećeno je smanjene sadržaja melanina od 91 % u usporedbi prema placebo kontroli nakon 28 dana primjene kreme s HEX (18).

D'Angelo Costa i Maia Campos su reflektivnom konfokalnom mikroskopijom ispitivali učinkovitost topikalnih antioksidansa na smanjenje melanogeneze. Ukupno 32 zdrave žene starosti između 39 i 55 godina podijeljene su u četiri skupine koje su bile tretirane sljedećim pripravcima: podloga, podloga s askorбил tetraizopalmitatom (ATIP), podloga s 0,1 % suhog ekstrakta modrozelenne alge *Spirulina sp.* i podloga s ekstraktom masline titiranim hidroksitirozolum. Ispitivani uzorci su primjenjivani kroz 42 dana, jednom navečer. Nakon toga provedena je slikovna analiza metodama visoke rezolucije i reflektivnom konfokalnom mikroskopijom na malarnoj regiji lica. Obje metode su dale rezultate prema kojima su se najučinkovitijima pokazale formulacije s askorбил tetraizoplmitatom i *Spirulinom sp.* Kod osoba koje su bile tretirane navedenim pripravcima došlo je do smanjena broja hiperreaktivnih piksela i poboljšanja svjetline bazalnog sloja (24).

Mikroiglice na bazi hijaluronske kiseline kao imaju značajan potencijal kao sredstva za poboljšanje apsorpcije aktivnih sastavnica. Avcil i sur. su proveli ispitivanje dermalne podnošljivosti i učinkovitost flastera s mikroiglicama na bazi hijaluronske kiseline napunjenih antimelanogenim aktivnim tvarim: hijaluronskom kiselinom s niacinamidom, 2-glukozidom askorbinske kiseline, traneksamičnom kiselinom, resveratrolom, 4-*n*-butil-rezorcinolom i vodenim ekstraktom alge *Halidrys siliquosa*. Provedeno je monocentrično kliničko ispitivanje tijekom 12 tjedana. Hijaluronski flasteri primijenjeni su na hiperpigmentirana područja lica sudionika. Promjene boje kože su analizirane spektrofotometrijski. Proizvodi su dobro podneseni od strane sudionika te nije bilo nuspojava. Boje kože mjerena je CIELAB prostorom boje (*CIELAB color space*) metodom koja se označava i s $L^*a^*b^*$. Dodatno, boja je mjerena i parametrom individualnog tipološkog kuta (eng. *individual typology angle*, ITA°). Prema obje metode došlo je do izraženog izbjeljivanja hiperpigmentacija. Stopa uspješnosti liječenja za subjekte s lezijom melazme koji su završili studiju je oko 50 %, dok je na 70 % ispitanika dokazano značajno poboljšanje liječenja tamnih mrlja, u prosjeku 60 %

uspjeha za sve subjekte. Individualna topološka mjerenja pokazala su 51,4 %-tna poboljšanja u hiperpigmentiranim zonama, koja su se također dobro slagala s osobnim dojmovima ispitanika utvrđenim upitnicima prije i nakon tretmana. Ispitan je subjektivni dojam sudionika ispitivanja pomoću ankete. Prema dobivenom rezultatu 70 % sudionika je procijenilo da je učinak izbjeljivanja kože bio više nego umjeren, a rezultat se odnosio i na lezije melazme i na tamne mrlje. Ti subjektivni rezultati su se slagali s instrumentalno izmjerenim rezultatima (25).

Pojava hiperpigmentacije ili hipopigmentacije nakon upale često je stanje u dermatologiji i kozmetologiji. Budući da točan mehanizam njegove pojave još nije poznat, prevencija i liječenje su problematični. Čini se da brojni čimbenici, poput α -MSH ili različitih medijatora upale, mogu potaknuti ekspresiju gena povezanu s melanogenezom aktivacijom signalnih putova. Stoga jedan od pristupa suzbijanja hiperpigmentacije može biti i korištenje pripravaka s protuupalnim učinkom (11). Nekoliko studija je pokazalo da pojedine vrste algi pokazuju protuupalni učinak koji bi posredno mogao dovesti do smanjenja melanogeneze. Primjerice vodeni ekstrakt mikroalge *Botryococcus braunii* je u makrofagima kojima lipopolisaharidima induciran stress smanjio ekspresiju enzima iNOS (eng. *inducible nitric oxide synthase*) za 50 % i proizvodnju NO za 75 % (26). Havas i sur. su proučavali antiglikacijski i protuupalni učinak ekstrakta zelene alge *Dunaliella salina*. Ispitivan je hidrofobni ekstrakt *D. salina* dobiven ekstrakcijom superkritičnim CO₂. Klinički je ispitan i protuupalni učinak na modelu upale stimulirane histaminom. Nakon 56 dana primjene, uočeno je snažno smanjenje reaktivnosti kože na stimulaciju histaminom. Povećalo se vrijeme početka reakcije preko 35 %, a zabilježeno je i smanjenje amplitude inducirane mikrocirkulacije od 14 % u odnosu na dan 0. Također je uočen učinak ispitivane formulacije na smanjenje crvenih mrlja i regija (na 56. dan, 26 % i 20 %) dok je primjena placeba pokazala suprotan učinak. Antiglikacijski učinak ispitan je na *ex vivo* modelu ljudske kože. Tretman ispitivanim ekstraktom je nakon 10 dana pokazao jaki antiglikacijski učinak, kako u nestimuliranim tako i u metilglioksalom stimuliranim modelima, pri čemu je bolji učinak (do 68%) zabilježen u potonjem modelu. Tretman 0,5 % *D. salina* ekstraktom tijekom 24 sata je rezultirao značajnim smanjenjem količine upalnih interleukina 6 i 8 (za 26 i 45 %), te značajnim poboljšanjem razine antioksidativnog i protuupalnog nuklearnog faktora eritroid 2-povezanog faktora 2 (19 %). Provedeno je i kliničko ispitivanjem pripravka dobivenog inkorporiranjem *D. salina* ekstrakta u jednostavnu podlogu gel kreme. U dvostruko slijepom placebo kontroliranom kliničkom ispitivanju

uzorak je primjenjivan 8 tjedana na 25 ženskih volontera starosti 35-60 godina. Od volonterki se očekivalo da će svakodnevno biti izloženi intenzivnom sunčevom zračenju. Mjerenja na 28. i 56. dan ispitivanja potvrdila su antiglikacijski učinak 1 % *D. salina* ekstrakta u formulaciji. Kod placebo nije dokazan statistički značajan učinak. Zanimljivo je napomenuti da je uočeno i značajno smanjenje broja i volumena bora (32 % i 35 %) u odnosu na placebo (27).

Acne vulgaris je česta upalna bolest. Među pacijentima s tamnijim fototipovima kože (Fitzpatrick III-VI), upalni procesi akni potiču prekomjernu melanogenezu i abnormalno taloženje melanina, što dovodi do promjena pigmenta poznatih kao postupalna hiperpigmentacija i postupalni eritem u svim tonovima kože. Pri tome je postupalna hiperpigmentacija češća kod tamnije kože, dok je postupalni eritem učestaliji kod svjetlije kože. Ove pigmentne promjene mogu biti dugotrajne i često su više uznemirujuće za pacijente od samih aktivnih lezija akni (28). Capitanio i sur. ispitivali su učinak proizvoda koji je bio kombinacija kompleksa oligosaharida iz vodenog ekstrakta morske alge *Laminaria digitata* i 0,1 % cink pirolidona na blage akne. U dvostruko slijepom, placebo kontroliranom ispitivanju sudjelovalo je 60 sudionika približno iste dobi. Oni su podijeljeni u dvije skupine, tako da ih je 30 primjenjivalo ispitivani proizvod, a 30 placebo, dva puta dnevno tijekom 8 tjedana. Nakon 8 tjedana obje skupine su imale značajno smanjenje komedona, papula i pustula, s time da je u skupini s ispitivanim proizvodom poboljšanje bilo izraženije. Ujedno je smanjena i proizvodnja sebuma. U niti jednoj od ispitivanih skupina nije došlo do iritacije ili ljuštenja kože (29).

Dio metabolita algi može djelovati fotoprotektivno te na taj način smanjiti utjecaj sunčevog zračenja na kožu, a posljedično i oksidativni stres, upalu i u konačnici sintezu melanina. Naime, UV zračenje pridonosi proizvodnji ROS u koži koji mogu stimulirati aktivaciju tirozinaze s obzirom da taj enzim preferira superoksidni anionski radikal ($O_2^{\cdot-}$) nad O_2 (30). Alge i njihovi metaboliti su u brojnim studijama pokazali snažne UV-protektivne značajke. U jednoj studiji je kombinacija UV filtra i crvene alge *Porphyra umbilicalis* suzbila eritem na koži miševa ozračenoj UV zračenjem značajno bolje nego filteri bez ekstrakta alge. Rezultati su bili statistički usporedivi s rezultatima neozračenih uzoraka (31). Kim i sur. istraživali su učinak 80 %-tnog metanolnog ekstrakta *Porphyra yezoensis* na na stanični glutation u HaCaT stanicama izloženim UVB zračenju. HaCaT stanice su spontano transformirani besmrtni ljudski keratinociti iz kože odrasle osobe. Intenzivno se koriste za proučavanje epidermalne homeostaze i njezine patofiziologije zbog svoje velike sposobnosti diferencijacije i proliferacije *in vitro*. *P. yezoensis* ekstrakt

je apliciran na HaCaT stanice nakon izlaganja UVB zračenju. Izlaganje UVB zračenju je smanjilo preživljavanje stanica i povećalo apoptotičku staničnu frakciju. Također, smanjilo je omjer reduciranog (GSH) prema oksidiranom glutationu (GSSG) i ukupni sadržaj glutationa. Tretman takvih stanica ekstraktom *P. yezoensis* uzrokovao je povećanje omjera GSH prema GSSG preko glutation reduktaze te je pojačao izlazak GSSG proizvedenih u reakcijama s ROS, što je pridonijelo održavanju staničnog glutationa u reduciranom stanju. Ti učinci su dokazani i u lažno izloženim stanicama što upućuje na to da je taj učinak moguće opći učinak ekstrakta *P. yezoensis* (32).

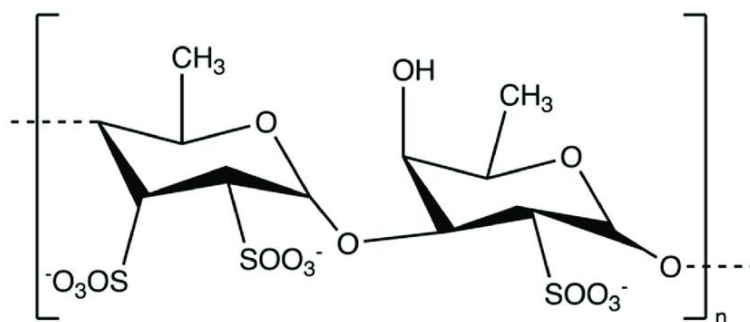
Hermund i sur. ispitivali su antioksidativni i fotoprotektivni učinak ekstrakata alge *Fucus vesiculosus*. Ispitivani su vodeni ekstrakt (FW-WE) i etanolni ekstrakt (FW-EE) s 7-14 % fluorotanina u suhome ekstraktu. UVA i UVB fotoprotektivni učinak ekstrakata je procjenjen pomoću *in vitro* metoda, Mansur metode za SPF (eng. *sun protection factor*) i kalkulacije efektivne apsorpcije sunčevog zračenja (eng. *effective solar absorption radiation, %ESAR*) za određivanje SPF-a i UVA protektivnog faktora (eng. *UVA protection factor, UVA-PF*) losiona obogaćenog morskim algama. Rezultati Mansur metode pokazali su da FV-WE i FV-EE u baznoj kremi imaju zanemariv fotozaštitni učinak dok je metoda %ESAR pokazala da FV-WE bio apliciran samostalno bilo u losionu ima zanemariv SPF i UV-PF. Zaključeno je da su koncentracije UV zaštitnih sastojaka u ispitivanim ekstraktima preniske te da je potrebno daljnje frakcioniranje i pročišćavanje florotanina koji se smatraju zaslužnima za učinak kako bi se SPF povećao (33).

U već spomenutoj studiji koje su proveli Mirata i sur. ispitivan učinak nekoliko ekstrakata alge *Ericaria amentacea* piređenih pomoću različitih otapala na keratinocite i fibroblaste ozračene UVB-zračenjem i tretirane vodikovim peroksidom. U obje vrste stanica sva su četiri ekstrakta uspjela u potpunosti inhibirati proizvodnju reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *Reactive Oxygen Species, ROS*) u stanicama. U slučaju etanolnog ekstrakta vršaka vrijednosti su bile čak ispod onih kontrolnih stanica. Četiri ekstrakta pokazala su različitu učinkovitost u inhibiciji tri UV-inducirana citokina u ljudskim keratinocitima. Interleukin-1 beta (IL-1 β) je bio značajno inhibiran sa sva četiri ekstrakta, pri čemu je etanolni ekstrakt vršaka bio nešto učinkovitiji (82 %) od ostalih (58-77%). Interleukin-6 (IL-6) je bio dobro inhibiran s etanolnim i DMSO ekstraktom vršaka (73% i 77%). Pojačana ekspresija gena interleukina-8 (IL-8) bila je učinkovito inhibirana etanolnim ekstraktom vršaka (78 %). Ista studija utvrdila je da se antioksidacijski učinak uočen na stanicama vjerojatno temelji na hvatanju slobodnih radikala: DPPH (2,2-

difenil-1-pikril-hidrazil) radikala, hidroksilnog radikala i dušikovog(II) oksida (NO). Za inhibiranje DPPH EC₇₅ (efektivne koncentracije) su iznosile 233,7 µg/mL i 45,4 µg/mL za DMSO ekstrakt vršaka i talusa, i 41,9 µg/mL i 404,1 µg/mL za etanolni ekstrakt vršaka i talusa. Ekstrapolirane aktivnosti EC₇₅ za ekstrakte bile su 512,5 µg/mL i 343,1 µg/mL za DMSO ekstrakt vršaka i talusa, i 311,6 µg/mL i 970,2 µg/mL za etanolni ekstrakt vršaka i talusa. Kod mjerenja sposobnosti hvatanja hidroksil radikala najbolji rezultat pokazao je etanolni ekstrakt vršaka s EC₅₀ 869,2 µg/mL, nakon čega su slijedili DMSO ekstrakt talusa s 1326,5 µg/mL, DMSO ekstrakt vršaka s 2097 µg/mL i etanolni ekstrakt talusa s 2291,6 µg/mL. Moć uklanjanje visoko reaktivnog NO radikala dala je vrlo bliske EC₅₀ vrijednosti za sva četiri ekstrakta, za DMSO ekstrakt vršaka i ekstrakt talusa 163,9 i 207,9 µg/mL, dok je za etanolni ekstrakt vršaka i talusa iznosila 234,2 i 272,8 µg/mL. Ispitivanje moći redukcije Fe³⁺ iona (eng. *ferric reducing antioxidant power Assay*, FRAP test) dalo je, ovisno o dozi, slične rezultate te se može pretpostaviti da se dio učinka vjerojatno temelji i na redukcijskim značajkama ekstrakata (19).

2.3. METABOLITI ALGA

Fukoidani (Slika 3) su skupina sulfatiranih polifukoznih polisaharida ekstrahirani iz smeđih morskih algi. Istraživački su veoma interesantni zbog svojih antitumorskih, imunomodulatornih, antioksidativnih, antivirusnih, antikoagulantnih i protuupalnih učinaka kao i zbog toga što su bogati nutritivni resurs neživotinjskog podrijetla. Jedan od njihovih istraživanih učinaka jest i antihiperpigmentacijski učinak (34).



Slika 3. Strukturna formula fukoidana (preuzeto s https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structure-of-fucoidan_fig4_360260366)

Wang i sur. su ispitivali učinak fukoidana protiv melanogeneze u stanicama mišjeg melanoma B16F10 koje su stimulirane s α -MSH. Prethodno je ispitan učinak fukoidana na tirozinazu gljiva. Stope inhibicije za 25, 50 i 100 $\mu\text{g/mL}$ fukoidana iznosile su 11,60 %, 28,11 %, i 33,62 %. Inhibitorni učinak koncentracije fukoidana od 100 $\mu\text{g/mL}$ bio je približan arbutinu (35,64 %), dobro poznatom antihiperpigmentacijskom agensu. Ovi rezultati indiciraju da fukoidan snažno inhibira tirozinazu. Nadalje, ispitan je učinak fukoidana na melanogenezu u B16F10 stanicama stimuliranim α -MSH. Tretman je proveden različitim koncentracijama fukoidana. Sadržaj melanina u α -MSH-stimuliranim B16F10 stanicama koje nisu bile tretirane *H. fusiforme* fukoidanom bio je značajno povećan, no tretmanom fukoidanom je smanjen ovisno o koncentraciji fukoidana. Fukoidan je pokazao blagu citotoksičnost na B16F1 stanice, ali je koncentracija od 25 $\mu\text{g/mL}$ bila sigurna te je korištena za daljnje istraživanje antimelanogenog mehanizma. Ujedno je dokazan i fotoprotektivni učinak fukoidana na HaCaT stanicama ozračenim UVB zračenjem. Tretman fukoidanom je u navedenim stanicama snizio razinu ROS i povećao vijabilnost, tj. smanjio stopu apoptoze (35).

Chen i sur. su proučavali antipigmentacijski učinak fukoidana iz vrste *Lamnaria japonica* te ovisnost učinka o molekularnoj masi (MW). Ispitivanje učinka provedeno je ispitivanjem sposobnosti inhibicije tirozinaze, antioksidacijske aktivnosti i sposobnosti inhibicije stanične melanogeneze. Frakcije fukoidana su prema veličini molekule svrstane u pet skupina: MW ispod 5 kDa, 5–10 kDa, 10–30 kDa, 30–50 kDa i preko 50 kDa. Među ispitivanim skupinama frakcija MW 5-10 kDa imala je najveći inhibicijski učinak na tirozinazu (62,0 %) i sposobnost hvatanja DPPH slobodnog radikala (48,3 %). Stanice B16 inkubirane su s različitim skupinama fukoidana u različitim koncentracijama na 72 sata. Ispitivanjem MTT testom dokazano je da fukoidan niske MW do koncentracije od 20 mg/mL nema citotoksičnih učinaka na B16 stanice. Arbutin je korišten kao pozitivna kontrola. Relativni sadržaj melanina u pozitivnoj kontroli bio je 50,6 %, 23,3 %, 8,6 % i 6,0 % pri 5, 10, 15 odnosno 20 mg/mL . Slično arbutinu, proizvodnja melanina bila je inhibirana različitim frakcijama fukoidana na o dozi ovisan način. Sposobnost inhibicije melanina frakcija fukoidana pokazala se usporediva sa sposobnošću arbutina pri povećanju koncentracije frakcija fukoidana, posebice frakcije s MW između 5-10 kDa (36).

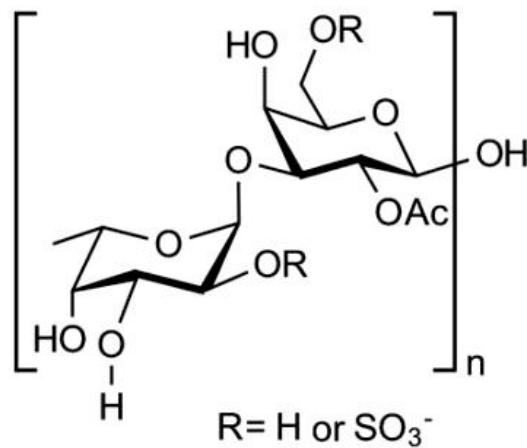
Wang i sur. proučavali su antimelanogeni učinak fukoidana na B16 stanice mišjeg melanoma. *In vitro* je dokazano da je fukoidan značajno smanjio aktivnost stanične tirozinaze na način ovisan o dozi s IC_{50} vrijednošću od $550 \pm 4,3 \mu\text{g/mL}$.

Ujedno je na modelu B16 stanica dokazano da je fukoidan smanjio stanični sadržaj melanina na o dozi ovisan način što se može povezati sa smanjenom sintezom stanične tirozinaze. Nakon tretmana fukoidanom morfologija stanica bila je promijenjena, a inducirana je i značajna apoptoza kada su stanice bile izložene 550 µg/mL fukoidana tijekom 48 sati (37).

Song i sur. proveli su istraživanje u kojem su pretpostavili da fukoidan iz alge *Fucus vesiculosus* ima utjecaj na ERK (eng. *extracellular-signal-regulated kinase pathway*) i Akt signalne putove u kontekstu melanogeneze. Dokazano je da fukoidan nema citotoksični učinak na Mel-Ab stanice u ispitivanim koncentracijama. Stanična aktivnost melanina i tirozinaze izmjerena je u Mel-Ab stanicama sa i bez fukoidana. Mel-Ab stanična linija je spontano dobivena besmrtna stanična linija mišjih melanocita koja proizvodi velike količine melanina. Za potrebe istraživanja stanice su tretirane s 0,200 µg/mL fukoidana tijekom 72 sata. Razina pigmentacije u stanicama tretiranim fukoidanom bila je niža od pigmentacije u kontrolnim stanicama, a tretman fukoidanom značajno je smanjio sadržaj melanina. Ispitivan je i učinak fukoidana na inhibiciju tirozinaze gljiva. Fukoidan nije izravno inhibirao aktivnost tirozinaze gljiva. Prema navedenome može se zaključiti da je do inhibicije sinteze melanina došlo regulacijom ekspresije tirozinaze. Nadalje je ispitan učinak fukoidana na razine MITF (eng. *microphthalmia-associated transcription factor*) i tirozinaze u Mel-Ab stanicama. Mel-Ab stanice su tretirane s 50 µg/mL na 24, 48 i 72 h. Fukoidan je smanjivao razine MITF i tirozinaze do 72 h (38).

Zanimljivo je napomenuti da se, osim fukoidana, i drugi sulfatirani polisaharidi alga mogu smatrati antipigmentacijskim agensima. Wang i sur. su iz vrste *Padina boryana* ekstrahirali sulfatirane polisaharide (PBP) i ispitali njihova fotoprotektivna i anti-melanogena svojstva. Prvo je ispitan učinak PBP na tirozinazu gljiva i sintezu melanina u B16F10 stanicama mišjeg melanoma. PBP su inhibirali tirozinazu gljiva za 23,57 %, 52,86 %, i 62,36 % u koncentracijama od 25 µg/mL, 50 µg/mL i 100 µg/mL, dakle učinak je rastao ovisno o koncentraciji. Nadalje, uočeno je smanjenje sadržaja melanina u α-MSH-stimuliranim B16F10 stanicama s 203,7 % na 183,64 %, 144,63% i 127,57 % pri koncentracijama PBP od 25 µg/mL, 50 µg/mL i 100 µg/mL. Osim toga, ispitivanje fotoprotektivnog učinka pokazalo je da PBP značajno štiti kožu od oštećenja uzrokovanih UVB zračenjem. PBP je, u koncentracijama od 25 µg/mL, 50 µg/mL i 100 µg/mL, na modelu HaCaT stanica ozračenih UVB zračenjem smanjio sadržaj

unutarstaničnih ROS s 192,67 % na 181,22 %, 170,25 % i 160,48 %. Na taj način ujedno je smanjena apoptoza HaCaT stanica i proupalni odgovori (39).



Slika 4. Strukturna formula sulfatiranog galaktofukanskog polisaharida (preuzeto s <https://www.elicityl-oligotech.com/galactofucan/124-galactofucan-polysaccharide-from-undaria-pinnatifida.html>)

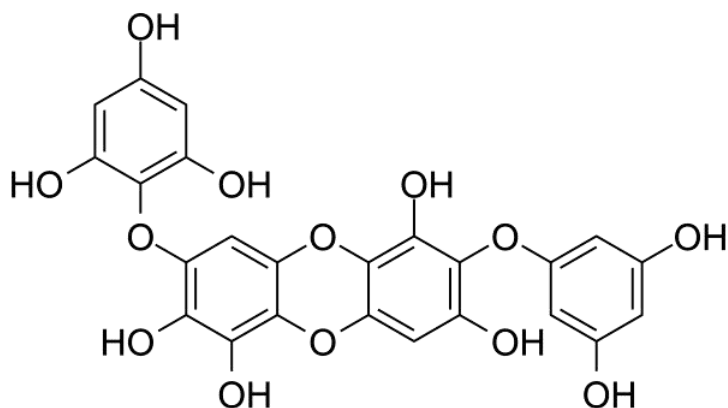
Wu i sur. pripremili su multifunkcionalni kompozitni hidrogel (FACP5) korištenjem sulfatiranih galaktofukanskih polisaharida (Slika 4) i alginatnih oligosaharida kao aktivnih sastojaka i poliakrilonitrilom modificiranog κ -karagenana kao podloge. Procijenjeno je djelovanje protiv fotostarenja *in vitro* i *in vivo* ispitivanjima. *In vitro* ispitivanja su pokazala da komponente hidrogela FACP5 pokazuju dobru antitirozinaznu aktivnost te mogu smanjiti stopu stanične smrti izazvanu UVB zračenjem. Osim toga potvrđena je i dobra biokompatibilnost te antioksidacijska aktivnost. *In vivo* ispitivanja su dala rezultate prema kojima je FACP5 povećao sadržaj vode u koži tretiranih miševa za 29,80%. Ujedno je povećao aktivnosti katalaze i superoksid dismutaze za 1,59, odnosno 0,72 puta. Sadržaj interleukina-6 i faktora nekroze tumora- α su smanjeni za 19,21 %, odnosno 17,85%, a razina ekspresije matrične metaloproteinaze-3 se smanjila za 42,80 % (40).

Nekoliko studija je ukazalo na to da fukoidan ima i fotoprotektivni učinak te potencijalno posredno može utjecati na proizvodnju melanina. Fukoidan iz vrste *Undaria pinnatifida* (UPF) pokazao je izvrstan učinak na HaCaT i HFF-1 stanicama. U uzorcima u kojima je primijenjen UPF (20 i 50 $\mu\text{g/mL}$) prije UVB zračenja značajno je smanjena stanična senescencija u odnosu na primjere u kojima nije UPF primjenjen (kontrola). Također je smanjena i ekspresija interleukina 6 i 8, te ekspresija MMP-1 (eng. *matrix*

metalloproteinase-1) i MMP-3 (eng. *matrix metalloproteinase-3*) kao i razina ROS u mitohondrijima (41). Slične rezultate pokazala je studija s fukoidanom iz vrste *Sargassum confusum*. Među nekoliko ispitivanih frakcija ona s najnižom molekulskom masom, imala je najbolji UVB zaštitni učinak (42). Dodatno, fukoidan iz alge *Costaria costata* smanjio je razine UVB-om inducirano MMP-1 promotora, mRNA i *in vitro* ekspresiju proteina u HaCaT stanicama (43). UV protektivni učinak pokazao je i fukozom bogati fukoidan izoliran iz vrste *Saccharina japonica* (44).

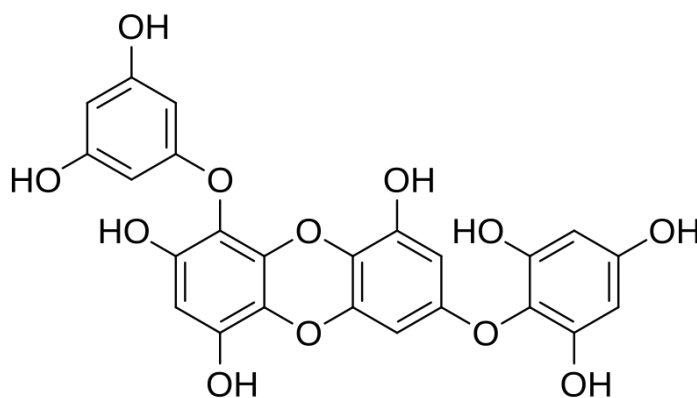
Iako se fenolni spojevi obično povezuju s kopnenim biljkama, alge, pogotovo smeđe alge, su također bogat izvor polifenola. Najvažniji među njima su florotanini, karakteristični upravo za smeđe alge. To su složeni polimerni spojevi floroglucinolnih jedinica, međusobno povezani različitim vezama, a za neke je karakteristična i prisutnost halogenih atoma. Florotanini štite stanice algi od UV zračenja, keliraju teške metale te djeluju antibakterijski. Osim florotanina, u algama se mogu naći i fenolne kiseline, poput galne ili hidoksibenzojeve kiseline, te flavonoidi, primjerice katehin i epikatehin, kao i njihovi konjugati (45).

Brojne fenolne sastavnice alga pokazuju izvrstan antihiperpigmentacijski učinak. Heo i sur. su ispitivali utjecaj 21 vrste morskih algi na melanogenezu ispitivanjem njihovog potencijala inhibicije tirozinaze. Najbolje rezultate je dao metanolni ekstrakt alge *Ishige okamurae* te je korišten u daljnjim ispitivanjima. Iz navedenog ekstrakta je etil acetatom frakcioniran difloretohidroksikarmalol (DPHC, Slika 5) koji je identificiran kao ključna sastavnica s inhibicijskim djelovanjem na tirozinazu. DPHC je u koncentracijama od 100 μM , 250 μM , i 500 μM za smanjio aktivnost tirozinaze gljiva na 32,98 %, 76,84 %, i 86,31 %. Uz to je DPHC imao jači inhibitorni učinak na tirozinazu s IC_{50} od 142,20 μM , u odnosu na komercijalno dostupni arbutin, IC_{50} 384,82 μM . Također je ispitivan inhibitorni učinak DPHC na sintezu melanina na B16F10 staničnim linijama mišjeg melanoma. U koncentracijama od 5 μM , 50 μM , i 100 μM DPHC je inhibirao sintezu melanina za 18,12 %, 62,46 %, i 74,56 %. Uz to je dokazano da DPHC ima učinak sličan (IC_{50} 37,73 μM) učinku PTU-a (IC_{50} 32,72 μM) te jači učinak od od retinola (IC_{50} 50,25 μM), te je bio koji su korišteni kao pozitivne kontrole (46).



Slika 5. Strukturna formula difloretohidroksikarmalola (preuzeto s <https://www.medchemexpress.com/diphlorethohydroxycarmalol.html>)

Ispitivan je i utjecaj DPHC na intracelularni ROS potaknut UVB zračenjem. Razina ROS u UVB ozračenim stanicama bila je 169,31 % u usporedbi s neozračenim stanicama. Dodatkom DPHC nakon ozračivanja, akumulacija unutarstaničnog ROS je smanjena za 138,79 %, 124,96 %, i 92,15 % za 5, 50, i 250 μM . Uz navedeno, sposobnost hvatanja ROS je povećana na način ovisan o dozi. Tako je DPHC u koncentracijama od 5 μM , 50 μM i 250 μM pokazao učinak od 18,03 %, 26,19 %, i 45,57 %. MTT testom je ispitan je protektivni učinak DPHC na UVB-om induciranu oksidativnu citotoksičnost. Preživljavanje ozračenih stanice bez DPHC je iznosilo 43,48 %. Nasuprot tomu, preživljavanje stanica prethodno tretiranih DPHC-om u koncentracijama od 5 μM , 50 μM , i 250 μM iznosilo je 49,87 %, 56,16 %, i 72,48 % u usporedbi s neozračenim stanicama. Studija je potvrdila i zaštitni učinak DPHC na oštećenje stanične DNA induciranu UVB zračenjem. UVB zračenje uzrokovalo je štetu na fibroblastima od 51,29 %, dok je kod negativne kontrole iznosila 1,21 %. U koncentracijama od 5 μM , 50 μM i 250 μM DPHC je inhibirao 21,47 %, 32,62 % i 49,33 oštećenja DNA (39).



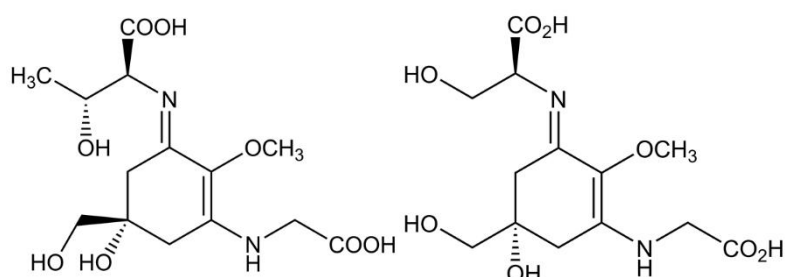
Slika 6. Strukturna formula 7-floroekola (preuzeto s <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7-Phloroeckol#section=2D-Structure>)

Yoon i sur. su ispitivali učinak florotanina izoliranih iz etanolnog ekstrakta vrste *Ecklonia cava* na tirozinazu gljiva i sintezu melanina induciranu 3-izobutil-1-metilksantinom (eng. *3-isobutyl-1-methylxanthine*, IBMX) u B16F10 stanicama mišjeg melanoma. Ispitivani florotanini pokazali su dobar inhibitorski učinak na tirozinazu gljiva, a među njima se učinkovitošću istaknuo 7-floroekol (Slika 6). Njegova IC_{50} za tirozinazu gljiva iznosila je $0,85 \mu\text{M}$ što je bilo znatno bolje od arbutina ($IC_{50} = 243,16 \mu\text{M}$) i kojične kiseline ($IC_{50} = 40,28 \mu\text{M}$) koji su korištene kao pozitivne kontrole. Nakon toga je ispitan njegov učinak na IBMX-om stimuliranim B16F10 stanicama melanoma. Tretmanom 7-floroekolom u koncentracijama od $12,5 \mu\text{M}$, $25,0 \mu\text{M}$, $50,0 \mu\text{M}$ i $100 \mu\text{M}$ sadržaj melanina smanjen je na 90,6 %, 67,8 %, 57,2 % i 51,5 % u usporedbi sa netretiranim stanicama (47).

Kose je pručavala antimelanogeni učinak masnih kiselina izoliranih iz mikroalgi. Mikroalge su bogate i zasićenim i nezasićenim masnim kiselinama. U studiji su korišteni ekstrakti masnih kiselina mikroalga *Cryptocodinium cohnii* i *Schizochytrium limacinum*. Provedeno je ispitivanje učinka na aktivnost tirozinaze gljiva te je utvrđeno da su ekstrakti dobiveni od obje vrste povećali aktivnost enzima tirozinaze ovisno o dozi. S druge strane, ekstrakt *S. limacinum*, u koncentraciji od $200 \mu\text{g/mL}$, je upola smanjio aktivnost tirozinaze u stanicama B16F10. Uz navedeno, alga *S. limacinum* bila je trostruko učinkovitiji inhibitor tirozinaze te je dvostruko učinkovitije smanjila sintezu melanina u usporedbi s *C. cohnii*. Ujedno je dokazana niska toksičnost *S. limacinum* za B16F10 stanice melanoma i HaCaT stanice (48).

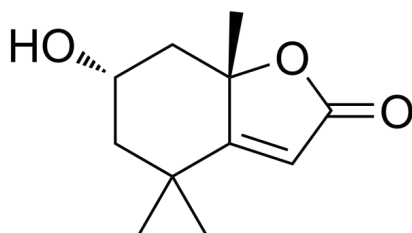
Mikosporini i aminokiseline slične mikosporinu (eng. *mycosporine-like amino acids*, MAA) su spojevi koji apsorbiraju ultraljubičasto zračenje. Mogu se naći u algama

I srodnim organizmima kao što su lišajevi, gljive, i modrozelenne alge, a njihova koncentracija u organizmu raste posebno nakon izlaganja sunčevom UV zračenju. Zbog svojih fotoprotektivnih i antioksidacijskih značajki imaju značajan potencijal kao prirodni bioaktivni sastojak u kozmetičkim proizvodima (49).



Slika 7. Strukturne formule (s lijeva na desno) porfire-334 i šinorina (preuzeto s <https://merckindex.rsc.org/monographs/m11675>)

Cilj istraživanja koje su proveli Rui i sur. bio je istražiti učinak ekstrakata crvene alge *Porphyra tenera* na fotostarenje izazvano UV zračenjem. Kemijska analiza pokazala je da ekstrakti sadrže MAA porfiru-334 i šinorin. Istraživanje je provedeno na miševima te je histopatološkom analizom promatrano oštećenje kože i kolagenog tkiva izazvano ultraljubičastim zračenjem, kao i protektivni učinci ekstrakata na ta oštećenja. Ekstrakti su značajno inhibirali smanjenje sadržaja hidroksiprolina i kolagena i zaštitili od patološkog oštećenja kolagenih vlakana u fotostarenju kože. MAA prisutni u ekstraktima su rezultirali smanjenjem ekspresije MMP-1, MMP-3 i TNF- α . Na temelju tih rezultata može se zaključiti da MAA štite kožu od fotooštećenja izazvanih UV zračenjem (50). Učinak MAA palitina, šinorina i porfire-334 (Slika 7) izoliranih iz morskih crvenih alga *Porphyra sp.* i *Palmaria palmata* na kolagenazu potvrđeno je i u studiji koju su proveli Hartmann i sur. Provedeno je ispitivanje na izoliranim spojevima. Korišteno je 8 koncentracija palitina i šinorina u rasponu od 12,5 do 125 $\mu\text{g/mL}$. IC_{50} palitina je iznosio 158,9 μM (38,82 $\mu\text{g/mL}$), a šinorina 104,0 $\mu\text{M} \pm$ (34,42 $\mu\text{g/mL}$). Porfira -334 je ispitivana u rasponu koncentracija od 1,87 do 150 $\mu\text{g/mL}$, a dobivena IC_{50} vrijednost je iznosila je 105,9 μM (37,73 $\mu\text{g/mL}$). Utvrđeni IC_{50} su bili manji od IC_{50} 1,10-fenantrolina standardnog inhibitora kolagenaze (za 70,4 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} je bila 238,1 μM , odnosno 42,86 $\mu\text{g/mL}$) (51).



Slika 8. Strukturna formula (+)-epiloliolida (preuzeto s <https://www.medchemexpress.com/plus-epiloliolide.html>)

Chung i sur. su iz metanolnog ekstrakta zelene alge *Ulva lactuca* izolirali (+)-epiloliolid (Slika 8), spoj zaslužan za popravak UVB zračenjem oštećene DNA. (+)-Epiloliolid je povećao preživljavanje dermalnih fibroblasta nakon izlaganja UVB zračenju, povećao nuklearnu lokalizaciju p53 i smanjio bubrenje jezgre što sugerira da regulira popravak DNA. U koncentraciji od 100 μM smanjio je razine p-p53, p21, Bim (eng. *Bcl-2 interacting mediator of cell death*/ eng. *Bcl-2-like protein 11*) i Bax za oko 70 %, 60 %, 58 % i 60 %, te povećao razinu Bcl-2 za oko 60% u usporedbi s UVB ozračenim stanicama. Također, (+)-epiloliolid je smanjio razine MMP 1,9 i 13, te povećao razinu COL1A1 proteina (eng. *collagen 1A1 protein*). U koncentracijama nižim od 200 μM nije bio citotoksičan (52).

3. RASPRAVA

Rezultati studija uključenih u ovaj specijalistički rad upućuju na to da su se smeđe alge, pokazale kao značajan izvori tvari i spojeva s antihiperpigmentacijskim djelovanjem. Ekstrakti alga pokazali su učinak na inhibiciju tirozinaze gljiva, a pokazale su se učinkovitima i u modelima smanjenja melanogeneze na zebričama te staničnim kulturama melanoma miša (15) i ljudskih epidermalnih melanocita (16), SDF-1 (18) i drugim modelima. Provedeno je i nekoliko kliničkih studija (18). Uz značajan učinak, zajednička crta većine studija je i niska toksičnost, neovisno o modelu kojim se ispivala.

Kao metabolit koji je velikim dijelom zaslužan za učinkovitost smeđih alga, pokazao se sulfatirani polisaharid, fukoidan. S obzirom da alga *Fucus vesiculosus* obiluje fukoidanom, pretpostavka njegove potentnosti leži u tome da je navedena alga tijekom svog životnog vijeka izložene velikim količinama sunčevog zračenja te zbog toga sintetizira i akumulira tvari koje apsorbiraju UV zračenje i štite organizam od UV induciranih oštećenja stanica i oksidativnog stresa (20). I drugi sulfatirani polisaharidi su također pokazali značajan antihiperpigmentacijski potencijal. Oni već dugo imaju svoje mjesto kao sirovina u prehrambenoj, farmaceutskoj, a posebno u kozmetičkoj industriji za izradu podloga, tj. kao pomoćna tvar (54). Jedan takav primjer sulfatiranih polisaharida su karagenani, koji se dobivaju iz crvenih algi, posebice iz vrste *Eucheuma cottonii*. S obzirom na dobivene rezultate ispitivanih crvenih algi, ali i sulfatiranih polisaharida, javlja se mogućnost njihovog dvojakog iskorištavanja, kao pomoćne i aktivne tvari pripravka. Oni svoj antihiperpigmentacijski učinak mogu postići na više načina, poput primjerice antioksidacijskog učinka utvrđenog za fukoidan i λ -karagenan (55).

Florotanini su skupina polifenolnih spojeva iz morskih algi. Nekoliko florotanina poput DPHC-a (46), izoliranog iz alge *Ishige okamurae*, i 7-floroekola (47) pokazalo je dobar inhibicijski učinak na tirozinazu kao i značajnu aktivnost u drugim metodama za ispitivanje melanogeneze, a DPHC smanjio razine ROS-a potaknutog UVB zračenjem (46). DPHC ima dobro utvrđen fotoprotektivni i *anti-age* učinak. U jednoj studiji je proučavana sposobnost DPHC da zaštiti HaCaT stanice od UVB zračenjem uzrokovano oštećenja. DPHC je poboljšao preživljavanje stanica i smanjio unutarstanične razine ROS izazvane UVB zračenjem, povećao je razine reduciranog glutaciona, aktivirane superoksid dismutaze i katalaze. DPHC je također smanjio oštećenje staničnih komponenti posredovano UVB zračenjem (56). Florotanini, pokazuju vrlo raznolike

učinke kao što su antioksidacijski, antimikrobni, antialergijski, antidijabetički, protuupalni, antikancerogeni, neuroprotektivni i druge.(57).Stoga bi njihova primjena u kozmetičkim proizvodima bila višestruko korisna. Zanimljivi metaboliti algi su i aminokiseline nalik mikrosporinu (MAA) koje apsorbiraju UVA i UVB sunčevo zračenje, a mogu raspršiti štetno UV zračenje u toplinsku energiju koja se rasipa u okolinu bez stvaranja reaktivnih fotoproizvoda (58).

Antioksidativni učinak alga posredno može utjecati na pigmentaciju kože jer oksidacija do koje dolazi prilikom izlaganja kože UV zračenju pridonosi aktivaciji melanogeneze. Redoks agensi mogu utjecati na pigmentaciju kože interakcijom s bakrom na aktivnom mjestu tirozinaze ili reakcijom s *o*-kinonima čime sprječavaju oksidativnu polimerizaciju međuprodukata melanogeneze. Antioksidansi također mogu smanjiti izravnu fotooksidaciju već postojećeg melanina (30). Rupérez i sur. (59) su već ranije proučavali antioksidativni kapacitet ekstrakta alge *Fucus vesiculosus*. Dokazan je veoma jak antioksidativni učinak FRAP ispitivanjem koji se pripisao fukoidanu koji je detektiran kao ključni sulfatirani polisaharid u staničnoj stijenci alga. I druge studije ukazuju na snažan antioksidacijski učinak algi. Primjerice, vodeni ekstrakt mikroalge *Botryococcus braunii* pokazao je izvrstan učinak u nekoliko antioksidacijskih testova poput ORAC (engl. *oxygen radical absorbance capacity*) testa, a isti je ekstrakt bio dobar hvatač kisikovih radikala u testu na NIH 3T3 stanicama mišjih fibroblasti (26). Osim toga vodeni ekstrakt crvene alge *Eucheuma cottonii* je dobar hvatač DPPH i hidroksilnog radikala (60). Topikalno korištenje antihiperpigmentacijskih tvari s mehanizmom antioksidacijskog djelovanja daje naslutiti da bi iste tvari, odnosno metaboliti alga, mogli naći svoje mjesto i u sastavu peroralnih pripravaka za očuvanje zdravog i mladenačkog izgleda kože. Na našem tržištu jesu već dostupni pripravci s astaksantinom (61), ksantofilnim karotenoidom čiji je glavni izvor mikroalga *Haematococcus pluvialis*, koji se pokazao kao veoma dobra prevencija i zaštita kože od fotooštećenja. Naspram toga, azijsko tržište obiluje biljnim preoralnim pripravcima za izbjeljivanje i održavanje zdravog izgleda kože, no većina njih svoje podrijetlo ima u Kineskoj tradicionalnoj medicini, te su potrebne daljnje studije kako bi se ustanovila njihova učinkovitost i sigurnost za korištenje (62).

Opisani spojevi pokazali kao veoma potentni u tretiranju hiperpigmentacija na modelima *in vitro*. Ipak, problem prolaska aktivnih sastavnica u dublje slojeve kože, odnosno na mjesto djelovanja, mogao bi biti ograničavajući faktor za njihovu primjenu u kozmetičkoj industriji. Stoga ih je potrebno ih je uklopiti u odgovarajući farmaceutski

oblik. Ti oblici trebali bi povećati propusnost kože, smanjiti oštećenja dubljih tkiva te omogućiti minimalno invazivnu i bezbolnu dostavu aktivnih tvari dublje u kožu. Neki od oblika koji imaju značajan potencijal za takav učinak su flasteri s mikroiglicama na bazi hijaluronske kiseline. Mikroiglice se koriste u transdermalnim sustavima za isporuku lijekova jer su učinkovite, sigurne, praktične i bezbolne (63) 63, a za potrebe izbjeljivanja kože mogu se napuniti antimelanogenim aktivnim tvarima. Dobar potencijal za primjenu u dermatofarmaciji imaju i obložene srebrne nanočestice (AgNP) (64). Metabolite algi bilo je moguće formulirati u oba sustava gdje su pokazali značajno djelovanje (22,25).

Alge imaju veliki potencijal u zelenoj proizvodni hrane i aktivnih kozmetičkih i farmaceutskih pripravaka. Vrlo su pogodne za kultivaciju sa svrhom proizvodnje određenih aktivnih tvari. U kontekstu kultivacije, alge su našle svoju ulogu kao “čistači” okoliša. Njihovom kultivacijom bi se mogla iskoristiti njihova sposobnost hvatanje i recikliranje zagađivača koji dovode do acidifikacije oceana i globalnog zatopljenja. Osim izravnog ublažavanja kritičnih čimbenika za okoliš, prošireni uzgoj algi proizveo bi veliki novi tok biomase, potencijalno korisne ili kao sama vrijedna organska roba ili za smanjenje problema poboljšanja tla usporavanjem gubitka obradivih površina (65).

4. ZAKLJUČAK

Kožne hiperpigmentacije su raširen dermatološki problem te predstavljaju neugodan estetski problem za pojedinca. Razvitkom kozmetičke industrije i osluškivanjem potreba i želja potrošača modernog tržišta sve je jasnije da postoji težnja ka održivim i prirodnim opcijama za formiranje proizvoda i liječenje stanja poput hiperpigmentacija kože. Tu bi svoje mjesto mogle naći alge kao siguran i učinkovit izvor sirovina za proizvodnju pripravaka s antihiperpigmentacijskim djelovanjem. Pregledom baze radova utvrđeno je kako ekstrakti alga te pojedini metaboliti daju konkretne rezultate koji potvrđuju njihovu učinkovitost kod tretmana hiperpigmentacija kože. Po djelotvornosti su se istaknuli ekstrakti smeđih alga, manje zelenih, modrozelenih i crvenih, iako se za njih ne može tvrditi da su potpuno neučinkoviti kao antihiperpigmentacijski agensi. Među metabolitima upravo smeđih alga se za liječenje hiperpigmentacija istaknuo fukoidan, sulfatirani polisaharid. Uz njega su se još istaknuli difloretohidroksikarmalol, 7-floroekol, derivati glane kiseline i aminokiseline nalik mikrosporinu. Njihov mehanizam djelovanja je najčešće inhibicija ključnog enzima u sintezi melanina, tirozinaze, što posljedično dovodi i do smanjenja stvaranja melanocita. Iako ispitivani ekstrakti i metaboliti alga imaju dobar potencijal liječenja hiperpigmentacija, potrebna su dodatna ispitivanja s brojnijim i preciznije definiranim sudionicima te dugoročno praćenje tretmana, što će pridonijeti boljem uvidu u djelotvornost i sigurnost pojedinog ekstrakta ili metabolita alga.

5. LITERATURA

- Couteau C, Coiffard L. Phycocosmetics and Other Marine Cosmetics, Specific Cosmetics Formulated Using Marine Resources. *Mar Drugs*. 2020;18:322.
1. Kalasariya HS, Yadav VK, Yadav KK, Tirth V, Algahtani A, Islam S, Gupta N, Jeon BH. Seaweed-Based Molecules and Their Potential Biological Activities: An Eco-Sustainable Cosmetics. *Molecules*. 2021;26:5313.
2. Yi Zhen Chiang N, Verbov J. *Dermatology: Handbook for medical students & junior doctors*. British Association of Dermatologists, 2014, 23-27.
3. The Australasian college of dermatologists: Skin structure and function. Available at <https://www.dermcoll.edu.au/atoz/skin-structure-function/>. Accessed May 9, 2023.
4. Šitum M. *Dermatovenerologija: udžbenik i atlas za studente medicine i stomatologije*. Zagreb, Medicinska naklada, 2018, 253-262.
5. Gonzalez N, Perez M. Natural Cosmeceutical Ingredients for Hyperpigmentation. *J Drugs Dermatol*. 2016;15:26-34.
6. Zolghadri S, Bahrami A, Hassan Khan MT, Munoz-Munoz J, Garcia-Molina F, Garcia-Canovas F, Saboury AA. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2019;34:279-309.
7. Yoon JE, Kim Y, Kwon S, Kim M, Kim YH, Kim JH, Park TJ, Kang HY. Senescent fibroblasts drive ageing pigmentation: A potential therapeutic target for senile lentigo. *Theranostics*. 2018;8(17):4620-4632.
8. Merecz-Sadowska A, Sitarek P, Kowalczyk T, Zajdel K, Kucharska E, Zajdel R. The Modulation of Melanogenesis in B16 Cells Upon Treatment with Plant Extracts and Isolated Plant Compounds. *Molecules*. 2022;27:4360.
9. Qu J, Yan M, Fang Y, Zhao J, Xu T, Liu F, Zhang K, He L, Jin L, Sun D. Zebrafish in dermatology: a comprehensive review of their role in investigating abnormal skin pigmentation mechanisms. *Front Physiol*. 2023;14:1296046.
10. Fu C, Chen J, Lu J, Yi L, Tong X, Kang L, Pei S, Ouyang Y, Jiang L, Ding Y, Zhao X, Li S, Yang Y, Huang J, Zeng Q. Roles of inflammation factors in melanogenesis (Review). *Mol Med Rep*. 2020;21:1421-1430.
11. Diaz CJ, Douglas KJ, Kang K, Kolarik AL, Malinovski R, Torres-Tiji Y, Molino JV, Badary A, Mayfield SP. Developing algae as a sustainable food source. *Front Nutr*. 2023;9:1029841.
- 12.

- Lewin RA, Andersen RA. "algae" (mrežne stranice). Encyclopedia Britannica. 2023 Jan 13. (pristupljeno 13. siječnja 2024.). Dostupno na <https://www.britannica.com/science/algae>.
14. Dini I. The Potential of Algae in the Nutricosmetic Sector. *Molecules*. 2023;28:4032.
Cha SH, Ko SC, Kim D, Jeon YJ. Screening of Marine Algae for Potential Tyrosinase Inhibitor: Those Inhibitors Reduced Tyrosinase Activity and Melanin Synthesis in Zebrafish. *J Dermatol*. 2011;38:354-363.
 15. Quah CC, Kim KH, Lau MS, Kim WR, Cheah SH, Gundamaraju R. Pigmentation and dermal conservative effects of the astonishing algae *Sargassum polycystum* and *Padina tenuis* on guinea pigs, human epidermal melanocytes (HEM) and Chang cells. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2014;11:77-83.
Chan YY, Kim KH, Cheah SH. Inhibitory effects of *Sargassum polycystum* on tyrosinase activity and melanin formation in B16F10 murine melanoma cells. *J Ethnopharmacol*. 2011;137:1183-1188.
 17. Meunier M, Bracq M, Chapuis E, Lapierre L, Humeau A, Bernard S, Lambert C, Paulus C, Auriol P, Lemagnen P, Sandré J, Auriol D, Scandolera A, Reynaud R. Targeting SDF-1 as an efficient strategy to resolve skin hyperpigmentation issues with *Himanthalia elongata* extract. *J Cosmet Dermatol*. 2023;22:383-394.
 18. Mirata S, Asnaghi V, Chiantore M, Salis A, Benvenuti M, Damonte G, Scarfi S. Photoprotective and anti-aging properties of the apical frond extracts from the Mediterranean seaweed *Ericaria amentacea*. *Mar Drugs*. 2023;21:306.
Kalasariya HS, Pereira L, Patel NB. Comprehensive phytochemical analysis and bioactivity evaluation of *Padina boergesenii*: Unveiling its prospects as a promising cosmetic component. *Mar Drugs*. 2023;21:385.
 20. Choosuwana P, Praiboon J, Boonpisuttinant K, Klomjit A, Muangmai N, Ruangchuay R, Chirapart A. Inhibitory Effects of *Caulerpa racemosa*, *Ulva intestinalis*, and *Lobophora challengeriae* on Tyrosinase Activity and α -MSH-Induced Melanogenesis in B16F10 Melanoma Cells. *Life (Basel)*. 2023;13:934.
 21. Pekkoh J, Ruangrit K, Kaewkod T, Tragoolpua Y, Hoijang S, Srisombat L, Wichapein A, Pathom-Aree W, Kato Y, Wang G, Srinuanpan S. Innovative Eco-Friendly Microwave-Assisted Rapid Biosynthesis of Ag/AgCl-NPs Coated with Algae Bloom Extract as Multi-Functional Biomaterials with Non-Toxic Effects on Normal Human Cells. *Nanomaterials (Basel)*. 2023;13:2141.
 22. Hameury S, Borderie L, Monneuse JM, Skorski G, Pradines D. Prediction of skin anti-

- aging clinical benefits of an association of ingredients from marine and maritime origins: Ex vivo evaluation using a label-free quantitative proteomic and customized data processing approach. *J Cosmet Dermatol.* 2019;18:355-370.
- D'Angelo Costa GM, Maia Campos PMBG. Efficacy of Topical Antioxidants in the Skin Hyperpigmentation Control: A Clinical Study by Reflectance Confocal Microscopy. *J Cosmet Dermatol.* 2021;20:538-545.
24. Avcil M, Akman G, Klokkers J, Jeong D, Çelik A. Clinical Efficacy of Dissolvable Microneedles Armed with Anti-Melanogenic Compounds to Counter Hyperpigmentation. *J Cosmet Dermatol.* 2021;20:605-614.
- Buono S, Langellotti AL, Martello A, Bimonte M, Tito A, Carola A, Apone F, Colucci G, Fogliano V. Biological Activities of Dermatological Interest by the Water Extract of the
26. Microalga *Botryococcus braunii*. *Arch Dermatol Res.* 2012;304:755-764.
- Havas F, Krispin S, Cohen M, Loing E, Farge M, Suere T, Attia-Vigneau J. A *Dunaliella salina* Extract Counteracts Skin Aging under Intense Solar Irradiation Thanks to Its
27. Antiglycation and Anti-Inflammatory Properties. *Mar Drugs.* 2022;20:104.
- Elbuluk N, Grimes P, Chien A, Hamzavi I, Alexis A, Taylor S, Gonzalez N, Weiss J, Desai SR, Kang S. The Pathogenesis and Management of Acne-Induced Post-
28. inflammatory Hyperpigmentation. *Am J Clin Dermatol.* 2021;22:829-836.
- Capitanio B, Sinagra JL, Weller RB, Brown C, Berardesca E. Randomized Controlled
29. Study of a Cosmetic Treatment for Mild Acne. *Clin Exp Dermatol.* 2012;37:346-349.
- Gillbro JM, Olsson MJ. The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents--
30. existing and new approaches. *Int J Cosmet Sci.* 2011;33:210-221.
- Mercurio DG, Wagemaker TA, Alves VM, Benevenuto CG, Gaspar LR, Maia Campos PM. In vivo Photoprotective Effects of Cosmetic Formulations Containing UV Filters, Vitamins, *Ginkgo biloba* and Red Algae Extracts. *J Photochem Photobiol B.*
31. 2015;153:121-6.
- Kim S, You DH, Han T, Choi EM. Modulation of Viability and Apoptosis of UVB-Exposed Human Keratinocyte HaCaT Cells by Aqueous Methanol Extract of Laver
32. (*Porphyra yezoensis*). *J Photochem Photobiol B.* 2014;141:301-307.
- Hermund DB, Torsteinsen H, Vega J, Figueroa FL, Jacobsen C. Screening for New Cosmeceuticals from Brown Algae *Fucus vesiculosus* with Antioxidant and Photo-
33. Protecting Properties. *Mar Drugs.* 2022;20:687.
34. Park JH, Choi SH, Park SJ, Lee YJ, Park JH, Song PH, Cho CM, Ku SK, Song CH.

- Promoting Wound Healing Using Low Molecular Weight Fucoidan in a Full-Thickness Dermal Excision Rat Model. *Mar Drugs*. 2017;15:112.
- Wang L, Oh JY, Kim YS, Lee HG, Lee JS, Jeon YJ. Anti-Photoaging and Anti-Melanogenesis Effects of Fucoidan Isolated from *Hizikia fusiforme* and Its Underlying
35. Mechanisms. *Mar Drugs*. 2020;18:427.
- Chen Q, Kou L, Wang F, Wang Y. Size-Dependent Whitening Activity of Enzyme-
36. Degraded Fucoidan from *Laminaria japonica*. *Carbohydr Polym*. 2019;225:115211.
- Wang ZJ, Xu W, Liang JW, Wang CS, Kang Y. Effect of fucoidan on B16 murine melanoma cell melanin formation and apoptosis. *Afr J Tradit Complement Altern Med*.
37. 2017;14):149-155.
- Song YS, Balcos MC, Yun HY, Baek KJ, Kwon NS, Kim MK, Kim DS. ERK Activation by Fucoidan Leads to Inhibition of Melanogenesis in Mel-Ab Cells. *Korean J Physiol*
38. *Pharmacol*. 2015;19:29-34.
- Campos PMBGM, Benevenuto CG, Calixto LS, Melo MO, Pereira KC, Gaspar LR. Spirulina, *Palmaria palmata*, *Cichorium intybus*, and *Medicago sativa* extracts in cosmetic formulations: an integrated approach of in vitro toxicity and in vivo acceptability studies.
39. *Cutan Ocul Toxicol*. 2019;38:322-329.
- Wu Y, Geng L, Zhang J, Wu N, Yang Y, Zhang Q, Duan D, Wang J. Preparation of multifunctional seaweed polysaccharides derivatives composite hydrogel to protect ultraviolet B-induced photoaging *in vitro* and *in vivo*. *Macromol Biosci*.
40. 2024;24:e2300292.
- Jing R, Guo K, Zhong Y, Wang L, Zhao J, Gao B, Ye Z, Chen Y, Li X, Xu N, Xuan X. Protective Effects of Fucoidan Purified from *Undaria pinnatifida* Against UV-Irradiated
41. Skin Photoaging. *Ann Transl Med*. 2021;9:1185.
- Fernando IPS, Dias MKHM, Madusanka DMD, Han EJ, Kim MJ, Jeon YJ, Ahn G. Fucoidan refined by *Sargassum confusum* indicate protective effects suppressing photo-oxidative stress and skin barrier perturbation in UVB-induced human keratinocytes. *Int J*
42. *Biol Macromol*. 2020;164:149-161
- Moon HJ, Park KS, Ku MJ, Lee MS, Jeong SH, Imbs TI, Zvyagintseva TN, Ermakova SP, Lee YH. Effect of *Costaria costata* Fucoidan on Expression of Matrix Metalloproteinase-1
43. Promoter, mRNA, and Protein. *J Nat Prod*. 2009;72:1731-1734.
- Su W, Wang L, Fu X, Ni L, Duan D, Xu J, Gao X. Protective Effect of a Fucose-Rich
44. Fucoidan Isolated from *Saccharina japonica* against Ultraviolet B-Induced Photodamage

- In Vitro in Human Keratinocytes and In Vivo in Zebrafish. *Mar Drugs*. 2020;18:316.
- Montero L, Del Pilar Sánchez-Camargo A, Ibáñez E, Gilbert-López B. Phenolic Compounds from Edible Algae: Bioactivity and Health Benefits. *Curr Med Chem*. 2018;25:4808-4826.
45. Heo SJ, Ko SC, Kang SM, Cha SH, Lee SH, Kang DH, Jung WK, Affan A, Oh C, Jeon YJ. Inhibitory Effect of Diphloretohydroxycarmalol on Melanogenesis and its Protective Effect Against UV-B Radiation-Induced Cell Damage. *Food Chem Toxicol*. 2010;48:1355-1361.
46. Yoon NY, Eom TK, Kim MM, Kim SK. Inhibitory effect of phlorotannins isolated from *Ecklonia cava* on mushroom tyrosinase activity and melanin formation in mouse B16F10 melanoma cells. *J. Agric. Food Chem*. 2009;57:4124-4129.
47. Kose A. Chemical composition and tyrosinase inhibitory activities of fatty acids obtained from heterotrophic microalgae, *S. limacinum* and *C. cohnii*. *Appl Biochem Biotechnol*. 2023;195:369-385.
48. Geraldes V, Pinto E. Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs): Biology, Chemistry and Identification Features. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14:63.
49. Rui Y, Zhaohui Z, Wenshan S, Bafang L, Hu H. Protective effect of MAAs extracted from *Porphyra tenera* against UV irradiation-induced photoaging in mouse skin. *J Photochem Photobiol B*. 2019;192:26-33.
50. Hartmann A, Gostner J, Fuchs JE, Chaita E, Aligiannis N, Skaltsounis L, Ganzera M. Inhibition of Collagenase by Mycosporine-like Amino Acids from Marine Sources. *Planta Med*. 2015;81:813-820.
51. Chung Y, Jeong S, Lee IK, Yun BS, Lee JS, Ro S, Park JK. Regulation of p53 Activity by (+)-Epiloliolide Isolated from *Ulva lactuca*. *Mar Drugs*. 2021;19:450.
52. Chrapusta E, Kaminski A, Duchnik K, Bober B, Adamski M, Bialczyk J. Mycosporine-like amino acids: Potential health and beauty ingredients. *Mar Drugs*. 2017;15:326.
53. Kumar YN, Poong SW, Gachon C, Brodie J, Sade A, Lim PE. Impact of elevated temperature on the physiological and biochemical responses of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta). *PLoS One*. 2020;15(9):e0239097.
54. Rocha de Souza MC, Marques CT, Guerra Dore CM, Ferreira da Silva FR, Oliveira Rocha HA, Leite EL. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *J Appl Phycol*. 2007;19:153-160.
55. Piao MJ, Kang KA, Kim KC, Chae S, Kim GO, Shin T, Kim HS, Hyun JW.
- 56.

- Diphlorethohydroxycarmalol attenuated cell damage against UVB radiation via enhancing antioxidant effects and absorbing UVB ray in human HaCaT keratinocytes. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013;36:680-688.
- Kumar LRG, Paul PT, Anas KK, Tejpal CS, Chatterjee NS, Anupama TK, Mathew S, Ravishankar CN. Phlorotannins-bioactivity and extraction perspectives. *J Appl Phycol.* 2022;34:2173-2185.
- Chrapusta E, Kaminski A, Duchnik K, Bober B, Adamski M, Bialczyk J. Mycosporine-like amino acids: Potential health and beauty ingredients. *Mar Drugs.* 2017;15:326.
- Rupérez P, Ahrazem O, Leal JA. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J Agric Food Chem.* 2002;50:840-845.
- Teo BSX, Gan RY, Abdul Aziz S, Sirirak T, Mohd Asmani MF, Yusuf E. In vitro evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Eucheuma cottonii* extract and its in vivo evaluation of the wound-healing activity in mice. *J Cosmet Dermatol.* 2021;20:993-1001.
- Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. *Nutrients.* 2018;10:522.
- Ko CY, Chao J, Chen PY, Su SY, Maeda T, Lin CY, Chiang HC, Huang SS. Ethnobotanical Survey on Skin Whitening Prescriptions of Traditional Chinese Medicine in Taiwan. *Front Pharmacol.* 2021;12:736370.
- Hao Y, Li W, Zhou X, Yang F, Qian Z. Microneedles-Based Transdermal Drug Delivery Systems: A Review. *J Biomed Nanotechnol.* 2017;13:1581-1597.
- Kochhar JS, Tan JJY, Kwang YC, Kang L. *Microneedles for Transdermal Drug Delivery.* Springer Nature Switzerland AG: Springer International Publishing; 2019.
- Calahan D, Osenbaugh E, Adey W. Expanded algal cultivation can reverse key planetary boundary transgressions. *Heliyon.* 2018;4:e00538.