

BADANIA WOLNYCH RODNIKÓW POLIMERÓW MELANINOWYCH W PRODUKTACH KOSMETYCZNYCH Z ZASTOSOWANIEM SPEKTROSKOPII ELEKTRONOWEGO REZONANSU PARAMAGNETYCZNEGO

EWA CHODUREK¹, DARIA CZYŻYK², BARBARA PILAWA², SŁAWOMIR WILCZYŃSKI²

ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH,
¹KATEDRA I ZAKŁAD BIOFARMACJI, UL. NARCYZÓW 1,
 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA
²KATEDRA I ZAKŁAD BIOFIZYKI, UL. JEDNOŚCI 8,
 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

Przeprowadzono badania wolnych rodników występujących w polimerach melaninowych stosowanych w kosmetologii i medycynie estetycznej [1-2]. Wolne rodniki posiadają niesparowane elektrony, które powodują ich wysoką aktywność biochemiczną. Paramagnetyczne melaniny [3-9] mogą odpowiadać za reakcje wolnorodnikowe zachodzące w komórkach skóry oddziałujących z kosmetykiem. Reakjom wolnorodnikowym mogą towarzyszyć efekty toksyczne w tkankach. Wiedza o właściwościach wolnych rodników w melaninach jest więc bardzo ważna z medycznego punktu widzenia. Celem niniejszej pracy jest określenie koncentracji i właściwości wolnych rodników w polimerach melaninowych oraz ich oddziaływań z innymi składnikami kosmetyku.

Jako technikę eksperymentalną zastosowano spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) na pasmo X (9.3GHz) (RYS. 1).



RYS. 1. Spektrometr elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) na pasmo X.
 FIG. 1. An X-band electron paramagnetic resonance spectrometer.

Dla badanych próbek wyznaczono koncentrację wolnych rodników, współczynnik rozszczepienia spektroskopowego g , amplitudę, intensywność integralną oraz szerokość linii EPR.

Jako wzorzec koncentracji zastosowano ultramarynę i kryształ rubinu (RYS. 2).

ELECTRON PARAMAGNETIC RESONANCE STUDIES OF FREE RADICALS OF MELANIN POLYMERS IN COSMETIC PRODUCTS

EWA CHODUREK¹, DARIA CZYŻYK², BARBARA PILAWA², SŁAWOMIR WILCZYŃSKI²

MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA IN KATOWICE,
¹DEPARTMENT OF BIOPHARMACY,
 1 NARCYZOW STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND
²DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,
 8 JEDNOŚCI STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

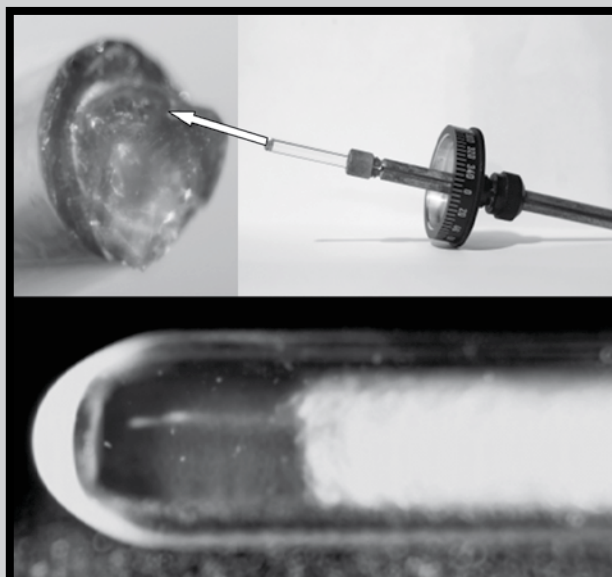
Free radicals existing in melanin polymers used in cosmetology and esthetical medicine were examined [1-2]. Free radicals contain unpaired electrons, which causes their high biochemical activity.

Paramagnetic melanin [3-9] may be responsible for free radical reactions in skin cells interacting with the cosmetic. Free radical reactions may be accompanied by toxic effects in tissues. Knowledge about free radical properties in melanins is very important from medical point of view. The aim of this works is to determine concentration and properties of free radicals in melanin polymers and their interactions with others components of cosmetic.

Electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR) at X-band (9.3GHz) was applied as the experimental technique (FIG. 1).

For the analysed samples free radical concentration, g factor, amplitude, integral intensity and linewidth of EPR spectra were determined.

Ultramarine and a ruby crystal were used as the references for free radical concentration (FIG. 2).



RYS.2. Paramagnetyczna ultramaryna i kryształ rubinu.
 FIG. 2. Paramagnetic ultramarine and a ruby crystal.

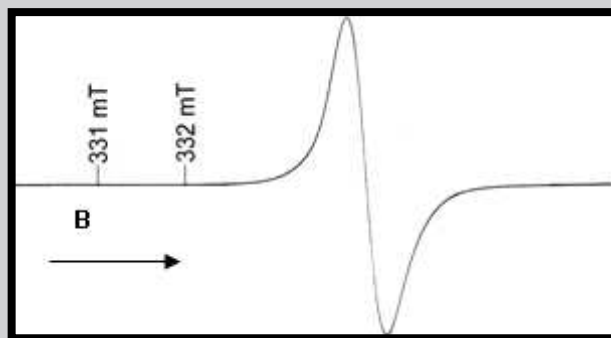
EPR spectra of melanin samples were measured at the wide range of microwave power of 0.7-70mW. EPR spectra of melanin were the broad asymmetric lines.

Widma EPR melanin rejestrowano w szerokim zakresie mocy mikrofalowych wynoszącym 0.7-70W. Widma EPR melanin są szerokimi asymetrycznymi liniami. Przykładowe widmo EPR modelowej eumelaniny – DOPA-melaniny pokazano na RYS. 3.

Badania metodą EPR wykazały, że w polimerach melaninowych występują głównie o-semichinonowe wolne rodniki o niesparowanym elektronie zlokalizowanym na atomie tlenu. Otrzymano charakterystyczne dla tego rodzaju wolnych rodników wartości współczynnika rozszczepienia spektroskopowego z zakresu 2.0045-2.0050. Silne sygnały EPR rejestrowano zarówno dla melaniny syntetycznej jak i naturalnej. Wysoka koncentracja wolnych rodników w analizowanych polimerach jest rzędu 10^{18} - 10^{19} spin/g. Nasylenie mikrofalowe widm EPR wskazuje na jednorodne rozmieszczenie wolnych rodników w polimerach melaninowych. Wolne rodniki w melaninach są położone blisko siebie, co powoduje poszerzenie ich linii EPR. Wykazano, że wolne rodniki melanin oddziałują ze innymi składnikami kosmetyków. Dowodem wskazującym na w/w oddziaływania jest zmiana parametrów widm EPR melaniny w zależności od środowiska fizykochemicznego, w którym polimery te występują.

[Inżynieria Biomateriałów, 81-84, (2008), 59-60]

Exemplary spectrum of model eumelanin – DOPA-melanin is presented in FIGURE 3.



RYS. 3. Widmo EPR DOPA-melaniny. B – indukcja pola magnetycznego.

FIG. 3. EPR spectrum of DOPA-melanin. B – induction of magnetic field.

EPR studies point out that o-semiquinone free radicals with unpaired electrons localized on oxygen atoms mainly exist in melanin polymers. g-Values characteristics for this type of free radicals in the range 2.0045-2.0050 were obtained. Strong EPR signals were recorded for both synthetic and natural melanin. High free radical concentration in the analyzed polymers is about 10^{18} - 10^{19} spin/g. Microwave saturation of EPR spectra indicates homogeneous distribution of free radicals in melanin polymers. Free radicals in melanins are nearly located, what causes broadening of their EPR lines. It was pointed out that melanin free radicals interact with others components of cosmetics. The interactions are stated by changes of parameters of melanin EPR spectra relative to their physicochemical environment.

[Engineering of Biomaterials, 81-84, (2008), 59-60]

Piśmiennictwo

- [1] L. Baumann L., Cosmetic Dermatology 2002.
- [2] J. Gibka, Wykorzystanie melaniny i procesu melanogenezy w kosmetyce, Polish Journal of Cosmetology 2000, 3, 164-176.
- [3] E. Chodurek, B. Pilawa, A. Dzierżęga-Lęcznar, S. Kurkiewicz, L. Świątkowska, T. Wilczok, Effect of Cu^{2+} and Zn^{2+} ions on DOPA-melanin structure as analyzed by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry and EPR spectroscopy, Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 2003, 70(1), 43-54.
- [4] B. Bilińska, B. Pilawa, Z. Zawada, E. Wylęgała, T. Wilczok, A. E. Dontsov, N. L. Sakina, M. A. Ostrovsky, V. B. Ilyasova, Electron spin resonance investigations of human retinal pigment epithelium melanosomes from young and old donors, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2002, 58(10), 2257-2264.
- [5] E. Buszman, B. Pilawa, T. Witoszyńska, M. Latocha, T. Wilczok, Effect of Zn^{2+} and Cu^{2+} on free radical properties of melanin from *Cladosporium cladosporioides*, Applied Magnetic Resonance 2003, 24, 401-407 (caprolactone) and the copolymers in vivo. Biomaterials (1981), 2:215-20.

References

- [5] Haberko K., Bućko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J.: Hydroksyapatyt naturalny-preparatyka, właściwości. Inż. Biomat. 2003, 30,31,32,33.
- [6] M. Matuszczyk, E. Buszman, B. Pilawa, T. Witoszyńska, T. Wilczok, Cd^{2+} effect on free radicals in *Cladosporium cladosporioides*-melanin tested by EPR spectroscopy, Chemical Physics Letters 2004, 394(4-6), 366-371.
- [7] B. Pilawa, E. Buszman, A. Gondzik, S. Wilczyński, M. Zdybel, T. Witoszyńska, T. Wilczok, Effect of pH on paramagnetic centers in *Cladosporium cladosporioides*, Acta Physica Polonica A 2005, 108(1), 147-150.
- [8] E. Buszman, B. Pilawa, M. Zdybel, S. Wilczyński, A. Gondzik, T. Witoszyńska, T. Wilczok, EPR examination of Zn^{2+} and Cu^{2+} binding by pigmented soil fungi *Cladosporium cladosporioides*, Science of The Total Environment 2006, 363(1-3), 195-205
- [9] B. Pilawa, E. Chodurek, T. Wilczok, Types of paramagnetic centres in Cu^{2+} complexes with model neuromelanins, Applied Magnetic Resonance 2003, 24, 417-422.