

**DESIGN DE PRODUS FARMACEUTIC PE BAZA  
DE ULEI DE CAMELINA - PLANTA  
OLEAGINOASA MULTIPOTENTA**

**DESIGN DE BIOPRODUS DE UZ TOPIC**

**Director proiect: CS I Prof. univ. Dr. Natalia ROSOIU**

**MEMBRU TITULAR AL ACADEMIEI OAMENILOR DE STIINTA DIN  
ROMANIA**

**CP II dr. ing. chim Andreea Roxana NITA**

**RAPORT FINAL – Noiembrie 2019**

# CUPRINS

<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>3</b>
<b>CAPITOLUL I: STUDII PRIVIND UTILIZAREA ULEIULUI DE CAMELINA IN FORMULARI DERMATOCOSMETICE .....</b>	<b>4</b>
<b>CAPITOLUL II: STUDII DE FORMULARE PENTRU PRODUSUL: LOTIUNE DE PLAJA PE BAZA DE ULEI DE CAMELINA; DETERMINAREA FACTORULUI DE PROTECTIE SOLARA (SPF) PENTRU ULEIUL DE CAMELINA .....</b>	<b>10</b>
<b>II.1. STUDII DE FORMULARE PENTRU PRODUSUL: LOTIUNE DE PLAJA PE BAZA DE ULEI DE CAMELINA.....</b>	<b>10</b>
<b>II.2. DETERMINAREA SPF PENTRU ULEIUL DE CAMELINA.....</b>	<b>14</b>
<b>CAPITOLUL III: TESTAREA EFICACITATII PRODUSULUI IN COMBINATIE CU ALTE ULEIURI VEGETALE .....</b>	<b>21</b>
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>28</b>

## INTRODUCERE

Introducerea ingredientelor active in produsele cosmetice si de mentinere a unei fiziologii normale a pielii au adus o serie de beneficii multiparametrice care au imbunatatit calitatea produselor si actul mecanismului tinta. Aceste ingrediente au atribuit produselor cosmetice functionalitate prin actiunea asupra tesutului pe suprafata caruia sunt aplicate cum ar fi: hidratarea, reducerea sau incetinirea fenomenelor asociate cu imbatranirea si protectia fata de diferitele agresiuni ale mediului inconjurator prin intermediul radiatie ultraviolete cu putere de penetrabilitate ridicata, ploaie, vant, praf, caldura.

Acerba concurenta din domeniul dermatocosmetic, ce a condus la dezvoltarea cercetarilor din aceasta sfera, a avut ca rezultat identificarea, izolarea si purificarea de noi materii prime, ce trebuie sa fie eficiente, sigure, biocompatibile, accesibile si sa aiba caracter de noutate. Progresul inregistrat in diferitele ramuri ale stintei si dezvoltarea altora cum sunt biologia moleculara, biotehnologiile, ingineria genetica, au determinat aparitia de noi materii prime, marea lor majoritate fiind izolate din surse naturale (prin aplicarea diferitelor tehnici de extractie dezvoltate si optimizate in scopul obtinerii unor preparate cu continut ridicat in compusii de interes si un grad mare de puritate) iar altele produse de microorganisme manipulate genetic. Noile ingrediente active au determinat cresterea interesului pentru obtinerea de vehicule adecvate, astfel incat ingredientul activ sa isi atinga cu usurinta tinta.

Utilizarea inca din antichitate a plantelor ca remedii naturale, a facut de-a lungul timpului posibila selectarea materialului vegetal cu excluderea celor daunatoare si utilizarea celor benefice pentru tratarea anumitor boli sau leziuni. Pana la analiza chimica si biologica din prezent privind *principiile active*, plantele au trecut proba timpului, astfel incat acum cand reactiile adverse a medicamentelor de sinteza constituie unul din neajunsurile civilizatiei, revenirea la produse naturale constituie un proces care este din ce in ce mai stimulat. Pe plan mondial se acorda o importanta tot mai mare produsilor naturali care au o biodisponibilitate crescuta si nu prezinta toxicitate, fiind in desfasurare ample studii cu privire la identificarea efectelor antioxidante si antitumorale ale unor noi compusi naturali.

In acest context, studiul de fata prin obiectivele propuse: eficientizarea si standardizarea tehnologiei de obtinere a uleiului de camelina, in scopul unor randamente crescute si concentratii optime de principii active, cat si inovarea de produs, prin dezvoltarea unui produs dermato-cosmetic, se incadreaza in tendintele cercetarilor din domeniul si se alatura efortului general de identificare a unor solutii naturale, inovative, de combatere a radiatiilor ultraviolete si implicit de prevenire a proceselor degradative de tipul celor intalnite in fotoimbatranire si senescenta.

Tehnicile dezvoltate in cadrul etapei I a acestui proiect au directionat procesele de obtinere a preparatelor catre anumiti compusi bioactivi de interes pentru aplicatiile propuse in cadrul acestei etape de dezvoltare de produs, valorificand materialului vegetal prin obtinerea uleiului de camelina presat la rece cu un randament optim de extractie a principiilor active.

# CAPITOLUL I: STUDII PRIVIND UTILIZAREA ULEIULUI DE CAMELINA IN FORMULARI DERMATOCOSMETICE

Camelina sativa este o plantă cu flori, oleaginoasa aparținând familiei *Brassicaceae* fiind cunoscută și sub denumirea de inul fals, având caracteristici agronomice cu aport redus. Camelina este o cultură de sezon scurt, care este bine adaptată la producție în zona cu climă temperată. Răspunde bine în condiții de stres de secetă și poate fi mai potrivită în regiuni cu precipitații scăzute decât majoritatea culturilor oleaginoase. Camelina este deosebit de competitivă în regiunile semi-aride și în soluri relativ sterile sau salin și este extrem de rezistent la condițiile adverse de mediu. Caracteristicile calității semințelor din Camelina (conținutul de ulei între 320 și 460g/kg, iar concentrația de acid alfa linolenic a fost identificată în gama largă de la 28 la 43% din total acizi grași) sunt caracteristici importante pentru prelucrarea și comercializarea culturii în concurență cu alte semințe oleaginoase. Există mai multe rapoarte care sugerează că aceasta planta este una dintre cele mai rentabile culturi oleaginoase către care ar fi bine să ne aplecăm în exploatarea de noi surse de acizi grași esențiali, în special acizii grași n-3 (omega-3) și a valorilor multiple ale utilizării.

## 1.1.Efectele compușilor din uleiul de camelină

Compoziția uleiului de camelină este caracterizată de prezența a două fracții: una saponificabilă (acizi grași) și una nesaponificabilă (tocoferoli, steroli). Componentele fracției saponificabile determină majoritatea aplicațiilor uleiului de camelină. Astfel, profilul acizilor grași este reprezentat în principal de acizi grași nesaturați: polinesaturați (>55%) și saturați (9,1-10,8%) (Tonca și colab., 2013). Componentul majoritar din uleiul de camelină este acidul gras omega 3 -acid linolenic, urmat de acidul gras omega-6-acid linoleic.

Cercetările efectuate de-a lungul timpului au evidențiat efecte benefice ale compușilor din uleiul de camelină atât în cazul administrării orale cât și în cazul administrării topice.

Importanța acizilor grași **omega-3 (acid  $\alpha$ -linolenic, EPA, DHA) și omega-6 (acid linoleic)** esențiali pentru sănătatea pielii a fost adusă în discuție prima dată în 1929 de către Burr și Burr, care au realizat un experiment din care rezulta faptul că absența lipidelor din dietă conduce la apariția unei erupții cutanate eritematoase cu descumare, însoțită și de o pierdere ridicată de apă la nivel transepidermic. Suplimentarea dietei cu acizi omega-6 și omega-3 și anume acid linoleic și  $\alpha$ -linolenic a condus la îmbunătățirea condiției generate de absența lipidelor. (McCusker și Grant-Kels, 2010).

Acizii grași omega-3 sunt un grup de acizi grași care au prima legătură dublă situată în poziția a treia pornind de la metilul terminal. Din acest grup fac parte: acidul  $\alpha$ -linolenic, acidul ecosapentaenoic (EPA) și acidul docosahaexenoic (DHA).

Raportul homeostatic ideal al acizilor  $\omega$ -6: $\omega$ -3 este 3:1. Pentru a atinge această concentrație este necesar un aport suplimentar de acizi  $\omega$ -3. (McCusker și Grant-Kels, 2010) Necesitatea suplimentării cu acizi omega-3 este dată de faptul că acidul omega-6 se consideră că ar favoriza resorbția osoasă și producerea inflamației. (Rui, 2015)

Acidul **linoleic** și compușii rezultați din metabolizarea acestuia au rol de **precursori structurali pentru ceramidele care intră în structura stratului cornos**, ca și **componentă majoră a matricei extracelulare cu implicare în permeabilitatea barierei stratului cornos**. (McCusker și Grant-Kels, 2010) Acizi grași **omega-3** sunt importanți pentru **structura membranelor celulare**, contribuind la menținerea **flexibilității** acesteia. (Rui, 2015)

Considerând rolurile lor, acești acizi au capacitatea să influențeze favorabil afecțiuni ale pielii precum cele inflamatorii sau procesul de carcinogeneză a pielii, incluzând melanomul, acnea vulgară, psoriazisul, dermatita, lupusul eritematos sistemic. (Krutman și Humbert, 2011). Administrarea de suplimente pe bază de acizi grași omega-3 concomitent cu aplicarea de tratament topic pentru tratarea psoriazisului a avut beneficii semnificative pentru pacienți comparativ cu utilizarea tratamentului topic individual. (Márquez Balbás și colab., 2011).

Acidul  $\alpha$ -linolenic și derivații săi au rol de **modulare a răspunsului imun al epidermei**. **Acidul linoleic** prezintă potențial pentru a fi utilizat în vindecarea rănilor considerând faptul că **favorizează debridarea autolitică** a rănilor prin producerea de metaloproteine care induc granulara și favorizează procesul de vindecare. Are **rol de regenerare a țesuturilor** prin formarea unei bariere naturale impermeabilă la nivelul pielii, promovarea chemotaxiei și angiogenezei și accelerarea procesului de granulare. Este **implicat în procesul de transport al lipidelor la nivel membranar**, în **modularea membranei celulare**, este **imunogen local**, **protejează pielea împotriva agenților chimici și enzimatici**, **protejează pielea de acțiunea agresivă a umectanților**. S-a remarcat și capacitatea acestuia de a **inhiba creșterea unor microorganisme** (Zheng și colab., 2005; Menis Ferreira și colab., 2012), cum ar fi *Staphylococcus aureus* care este inhibat printr-un mecanism ce afectează diviziunea celulară. (Menis Ferreira și colab., 2012).

Într-un experiment realizat pe porcușori de guineea maronii, a căror piele de pe spate prezenta hiperpigmentări induse prin expunere la lumină UV s-a observat un **efect de iluminare a pielii**. În urma testelor *in vitro* s-a dovedit că acidul  $\alpha$ -linolenic poate inhiba producerea de melanină în cultură de celule melanomice murine. În cadrul experimentului au fost testați și acizii linoleic și oleic, însă cel mai puternic efect a fost observat la cel  **$\alpha$ -linolenic**, fiind urmat de cel linoleic. Totodată acești doi acizi au arătat și capacitatea de a accelera refacerea stratului cornos, care are un rol important în îndepărtarea pigmentului melanic din epidermă. Având în vedere experimentele realizate, efectul de iluminare a pielii este pus pe seama suprimării producției de melanină de către melanocite și a îndepărtării crescute a melaninei din epidermă. (Ando și colab., 1998)

Aplicarea topică a acizilor **linoleic** și  **$\alpha$ -linolenic** poate fi eficientă în **restaurarea barierei de permeabilitate a stratului cornos**. Se consideră că aplicarea topică de lipide este benefică atât pentru pielea tânără cât și pentru cea matură, celei tinere fiindu-i specific un mix bazat pe lipide în principal, în timp ce pentru cea matură un amestec ce are componentă majoritară colesterolul este recomandat. (McCusker și Grant-Kels, 2010)

Acidul  $\alpha$ -linolenic în urma acțiunii unor enzime specifice este convertit în acid **eicosapentaenoic** (fig. 1) al cărui potențial ca agent de **prevenire a îmbatrânirii pielii** a fost demonstrat. EPA acționează prin inhibarea exprimării metaloproteinazelor MMP-1 și MMP-9 induse de expunerea la radiații UV, în fibroblaști dermici umani. Mecanismul prin care este realizată această inhibare presupune inhibarea fosforilării genei c-Jun a cărei activitate este strâns legată de proteina activatoare-1, inhibarea JNK și activarea p38. Pe lângă acțiunea asupra metaloproteinazelor, EPA inhibă ciclooxigenaza-2 fără a influența exprimarea ciclooxigenazei-1. Astfel aplicarea topică de EPA **reduce îngroșarea pielii și inhibă scăderea colagenului determinate de expunerea la lumină UV**. (Kim și colab., 2006).

În cazul pielii mature acidul **eicosapentaenoic**, prin stimularea exprimării TGF- $\beta$ , **crește exprimarea fibrelor de colagen și a fibrelor elastice**. (Kim și colab., 2006)

Acizii **eicosapentaenoic** și **docosahexaenoic** prezintă potențial de **reducere a inflamației generate în urma expunerii la UV**. Acest efect a fost demonstrat, *in vitro*, în urma aplicării topice a uleiului de sardine, care a prezentat un conținut ridicat de acizi omega-3, cuantificați prin GC (EPA-11,2% și DHA- 23,6%). Acțiunea acestuia a fost comparată cu cea a ketoprofenului, antiinflamator nesteroidian cu aplicare topică, uleiul de sardine prezentând un **efect inhibitor împotriva eritemului** indus de UVB de o intensitate pe jumătatea intensității efectului ketoprofenului. Totodată un amestec de ketoprofen 2% în ulei de sardine, a prezentat un efect antiinflamator chiar mai ridicat decât cel al ketoprofenului 2% emulsie ulei-apă, ceea ce, în opinia autorilor, se poate explica prin capacitatea antiinflamatoare a celor două componente, dar și prin accentuarea acesteia de către cei doi acizi EPA și DHA, prin mărirea permeabilității ketoprofenului prin piele. (Puglia și colab., 2005)

**Vitamina E** reprezintă componenta lipidică antioxidantă majoritară din piele, distribuită în stratul cornos, epiderm și derm. (Barel și colab., 2014). Vitamina E ajunge la nivelul stratului cornos prin două modalități: prin transfer din membrana keratinocitelor aflate în proces de diferențiere către celule noi formate, și prin intermediul glandelor sebacee, unde vitamina E ajunge la 2-3 săptămâni de la administrarea orală. (Barel și colab., 2014)

Vitamina E este reprezentată de un amestec format din fenoli solubili în lipide, tocoferoli și tocotrienoli a căror caracteristică structurală principală este capul aromatic cromanol la nivelul căruia se află gruparea hidroxil și coada hidrocarbonică cu 16 atomi de carbon. Diferitele tipuri de vitamina E depind de numărul substituenților metilici de la nivelul nucleului aromatic, care generează 4 izomeri ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) și de gradul de saturare al lanțului hidrocarbonic. (Sivamani și colab., 2015) În total sunt 8 tipuri de vitamina E, dintre care,  $\gamma$ -tocoferolul este cel mai abundent în dieta umană, iar  $\alpha$ -tocoferolul este cel mai abundent în țesuturi și ser. (Keen și Hassan, 2016). Există o serie de factori care conduc la scăderea nivelului de vitamina E din stratul cornos precum: radiații UV, ozonul, fumul de țigară, diferiți compuși oxidanți.  $\gamma$ -tocoferolul este mai rezistent decât  $\alpha$ -tocoferolul în ceea ce privește reducerea concentrației sale cauzată de expunerea UV. (Barel și colab., 2014).

Expunerea la radiații UV, având în vedere modificările consecutive acestora precum schimbări în structura ADN-ului, a proteinelor, a bazelor, reprezintă cel mai comun factor cauzator de cancer. Una dintre modificările cele mai comune reprezintă formarea 8OhdG (8-hidroxideoxiguanozină), care reprezintă o măsură a degradării oxidative a ADN-ului. (Stewart și colab., 1996) Un alt efect consecutiv expunerii la radiații UVB este creșterea nivelului de specii reactive de oxigen (SRO) la nivelul keratinocitelor. Cercetările au evidențiat **efectul protector** al vitaminei E *in vitro*, având la bază efectul său antioxidant prin inhibarea peroxidării lipidelor. (Stewart și colab., 1996; Jin și colab., 2007)

**$\gamma$ -tocoferolul** în concentrații mai mari decât cele ale  $\alpha$ -tocoferolului inhibă producția de PGE<sub>2</sub> și oxid nitric, **previne formarea de celule în urma arsurilor solare, peroxidarea lipidelor și edemul induse de UVB**. (Keen și Hassan, 2016). Aplicarea topică a unui **derivat de  $\gamma$ -tocoferol** ( $\gamma$ -TDMG)  $\gamma$ -tocoferol-N,N-dimetilglicinat hidrociorură, pre și post expunere la UV a avut un efect semnificativ în **prevenirea formării celulelor consecutiv arsurii solare**, în **prevenirea peroxidării lipidelor** și a **edemului/inflamării**, efecte specifice expunerii la radiații UVB. Experimentul a fost realizat pe șoareci. (Yasuoka și colab., 2005)

Formarea eritemului și edemului consecutiv expunerii pielii umane la radiații UVA este mediată de creșterea PGE<sub>2</sub> –prostaglandine E2, care este pusă pe seama exprimării crescute a COX-2 (ciclooxigenazei-2) în epidermă. Expunerea la UVB crește ARNm iNOS (sinteza oxidului nitric inductibil) și oxigenul nitric (NO) din keratinocite. NO și PGE<sub>2</sub> sunt mesageri importanți în cascada de semnalizare. Atât oxizii azotului cât și PGE<sub>2</sub> sunt diminuați *in vitro* și *in vivo* de  $\gamma$ -tocoferol care-și manifestă astfel efectul **antiinflamator**.  $\gamma$ -TDMG are capacitatea de a preveni formarea edemului respectiv a inflamației atât aplicat înainte de expunerea la UV, cât și aplicat după expunere, spre deosebire de  $\alpha$ -TA ( $\alpha$ -tocoferol acetat) care are efect în prevenirea inflamației doar atunci când este aplicat pre-expunere, ceea ce sugerează că mecanismul prin care acționează  $\gamma$ -TDMG nu este limitat doar la reducerea speciilor de oxigen reactiv format ca urmare a expunerii solare. (Yoshida și colab., 2006).

$\gamma$ -tocoferolul acționează ca antioxidant, inhibitor al COX-2, inhibitor al exprimării iNOS, în urma aplicării topice. (Yoshida și colab., 2006)

În aplicare topică, vitamina E este utilizată datorită **proprietăților antioxidante** și este folosită în **formulările anti-aging**, dat fiind faptul că speciile reactive de oxigen alterează biosinteza colagenului și glucozaminoglicanilor din piele. În ciuda cercetărilor intense există puține date care fac referire la dozele indicate pentru administrarea orală sau topică a vitaminei E. (Keen și Hassan, 2016).

**Fitosterolii** sunt un grup de substanțe chimice provenite din plante, a căror structură este similară cu structura colesterolului. Fitosterolii nu pot fi produși de către organismul uman, fiind necesar aportul lor din surse externe de natură vegetală (uleiuri, nuci). Cei mai abundenți fitosteroli sunt: campesterolul, stigmasterolul,  $\beta$ -sitosterolul. (Grattan Jr., 2013). Aplicarea topică de fitosteroli poate reduce transportul colesterolului în celulele pielii în acest fel prevenind apariția bolilor legate de tulburări ale colesterolului. (Rozner și colab., 2008)

În urma analizei GC a unei probe de ulei de camelină rafinat a fost identificată o fracție nesaponificabilă de 0,54 wt% dintre care 80% a fost reprezentată de desmetilsteroli. Principalii steroli din uleiul de camelină sunt: **colesterol** (188 ppm), **brasicasterol** (133 ppm), **campesterol** (893 ppm), **stigmasterol** (103 ppm), **sitosterol** (1884 ppm),  **$\Delta^5$ -avenasterol** (393 ppm). Uleiul de camelină prezintă ca și caracteristică definitorie un conținut de colesterol mai mare chiar și decât cel al plantelor recunoscute ca fiind bogate în colesterol, precum și o cantitate ridicată de brasicasterol. Pe lângă compușii care s-au putut identifica s-au găsit încă 3 steroli în cantitate de peste 50 ppm, dintre care doar doi au putut fi identificați cu ajutorul datelor din literatura de specialitate ca fiind cicloartenol (515 ppm) și 24-metilen cicloartenol (124 ppm) și peste 10 compuși minori care nu au putut fi identificați fără a concentra proba suplimentar. Concentrația în steroli se poate modifica în funcție de metodele de purificare la care este supus uleiul. (Shukla și colab., 2002).

$\beta$ -sitosterolul este utilizat în special pentru tratarea rănilor prin **accelerarea procesului de vindecare, reducerea cicatricilor, prevenirea creșterii bacteriene, refacerea funcției de barieră a pielii, susținută de diminuarea pierderii de apă**. Îmbunătățirea aspectului cicatricilor s-a observat încă după prima lună de tratament, perioadă scurtă de timp pentru tratarea cicatricilor folosind cosmeceutice. (Atiyeh și colab., 2002).  $\beta$ -sitosterolul a arătat potențial **anti-inflamator**, într-un studiu realizat pe rozătoare cărora li s-au indus diferite tipuri de inflamație acută, atât în cazul unei reacții inflamatorii imune, cât și în cazul uneia non-specifică, caracterizate prin edem. (Paniagua-Pérez și colab., 2017). Stigmasterolul **inhibă inflamația acută prin aplicare topică**, efect dovedit într-un test realizat pe șoareci cărora le-a fost indusă inflamație acută la nivelul urechii. (Garcia și colab., 1999).

Fracția îmbogățită cu steroli a uleiului de canola, plantă aparținând genului *Brassica*, **a redus gradul de iritare al pielii**, indus de surfactanți, la un nivel comparativ cu o cremă pe bază de hidrocortizon. În urma analizei uleiului s-a constatat că fracția conținea 1% steroli nesaponificabili și 0,7% steroli liberi. În fracția nesaponificabilă s-au identificat 7% steroli liberi, cei mai importanți fiind  $\beta$ -sitosterol, campesterol, brasicasterol. Efectele observate consecutiv aplicării topice a fracției cu steroli au fost **scăderea pierderii transepidermice de apă, scăderea fluxului de sânge**. Se presupune că steroli pot modifica structura lipidelor membranare din epidermă, acționând prin susținerea furnizării de lipide necesare pentru refacerea barierei pielii acolo unde aceasta este degradată ca urmare a iritării. (Lodén și Andersson, 1996).

Testarea unui preparat având la bază ulei de jojoba suplimentat cu fitosteroli și ceramide a inhibat reglarea în sens pozitiv (amplificarea) a MMP-1 indusă de expunerea la UV și reglarea în sens negativ (reductivă) a genelor COL1A1 și COL1A2, în acest fel **blocând reducerea sintezei de colagen consecutiv expunerii UV** și având chiar **potențial de stimulare a sintezei**. (Grether-Beck și colab., 2008)

Tratarea celulelor pielii cu fitosteroli (diosgenină, stigmasterol și  $\beta$ -sitosterol) determină **reducerea nivelului de enzime implicate în degradarea colagenului, precum MMP-1**, ceea ce se traduce într-o cantitate mai mare de colagen în piele. (Chiang și colab., 2012).



Unul din importantii factori ce trebuie luat în calcul în momentul includerii uleiului de camelina în diferite formule dermato-cosmetice sau farmaceutice este stabilitatea la oxidare a acestuia datorită conținutului ridicat în acizi grași polinesaturați ce fac ca uleiul de camelina să fie sensibil la oxidarea lipidelor. Astfel, studiile de stabilitate desfășurate au evidențiat faptul că uleiul de camelină presat la rece a fost mai stabil față de procesele oxidative decât uleiul de in, foarte nesaturat, dar mai puțin stabil decât uleiurile de rapiță, măsline, porumb, susan și floarea soarelui. Stabilitatea pe timpul depozitării a uleiului de camelina a fost posibilă datorită prezentei compusilor cu proprietăți antioxidante prezente în samanta și care, în etapele de procesare, au putut fi extrase fără a fi alterate. Analiza calitativă a uleiului de camelina obținut în urma aplicării tehnologiei dezvoltate în cadrul acestui proiect prezintă un profil neobișnuit de acizi grași, format din niveluri mai ridicate de acid alfa-linolenic și concentrații relativ mici de acid erucic, ceea ce ne determină să considerăm că acesta poate servi drept sursă interesantă de acid gras n-3 (omega-3). Prin urmare, uleiului de camelina presat la rece este un ulei vegetal unic, cu un conținut ridicat de omega-3, potrivit pentru o varietate de produse cu aplicativitate în grijirea pielii, acționând ca un agent anti-îmbătrânire și emolient îmbunătățind elasticitatea și suplețimea pielii.

## **CAPITOLUL II: STUDII DE FORMULARE PENTRU PRODUSUL: LOTIUNE DE PLAJA PE BAZA DE ULEI DE CAMELINA; DETERMINAREA SPF PENTRU ULEIUL DE CAMELINA**

### **II.1. Studii de formulare pentru produsul: lotiune de plaja pe baza de ulei de camelina**

Pielea este cel mai mare organ al corpului omenesc cu o suprafață de 1,5 metri pătrați în cazul unui adult. Acest organ îndeplinește următoarele roluri: producerea vitaminei D, reglarea temperaturii și protecția împotriva razelor ultraviolete. Stratul profund al pielii este responsabil pentru producerea de melanina, care absoarbe razele ultraviolete nocive și creează un pigment care îi oferă pielii aspectul de bronz după expunerea la soare.

Radiațiile UV (atât UV-A cât și UV-B) pot provoca oamenilor arsuri grave de piele, alergii, îmbătrânirea prematură a pielii și chiar cancer de piele. Se acceptă larg că radiațiile UV-C (o secvență a radiațiilor UV) sunt filtrate în atmosferă în stratul de ozon. Chiar dacă omenirea nu este și nu va fi afectată de radiațiile UV-C, prin stratul de ozon trec radiațiile UV-A și UV-B.

În acest context s-a dezvoltat conceptul de *protecție solară*, care reprezintă totalitatea măsurilor (metode, materiale și substanțe) care oferă protecție omului împotriva efectelor radiațiilor UV.

Un prim grup de măsuri vizează protecția internă, care are drept scop potențarea abilităților corpului de a contracara efectele radiațiilor UV. Consumarea unor alimente care conțin antioxidanți capabili să acționeze împotriva stresului oxidativ și a efectelor radicalilor liberi din organism, imprimând pielii rezistență la radiațiile solare, s-a dovedit o bună măsură, aplicată de altfel, pe baza intuiției și a experienței, din vechime.

Un alt grup de măsuri cuprinde elemente de protecție menite să prevină contactul prelungit cu radiațiile UV: evitarea expunerii la soare în mijlocul zilei, intervenții asupra spațiilor de trecere a radiațiilor (ecranări ale geamurilor de la ferestre), echiparea cu elemente vestimentare adecvate (îmbrăcăminte din fibre naturale, pălării sau alte acoperitori de cap), ochelari de soare, încălțăminte lejeră, din materiale naturale, igienice.

În categoria măsurilor de protecție externă intră și utilizarea unor substanțe de protecție, adică toată gama de loțiuni, uleiuri, creme etc., proiectate și realizate în scopul protejării de radiațiile solare. Eficacitatea acestor substanțe este apreciată printr-un indicator numit factor de protecție solară – SPF (sun protection factor). Factorul de protecție solară – SPF indică gradul de protecție împotriva arsurilor solare al fiecărui produs printr-un număr care arată de câte ori este mai mare timpul care trece de la aplicarea cremei până la înroșirea pielii, față de timpul de înroșire a pielii fără aplicarea cremei. Valorile acestui factor variază de la 6 la 50+.

În general toate aceste substanțe se depun pe corp, prin masare ori pulverizare, formând, pe porțiunile depuse, filtre sau chiar „ecrane“ pentru radiațiile solare. Consumatorii sunt îndrumați să aplice un strat gros pe suprafețe mari ale corpului și să reaplice frecvent. Astfel, ingredientele din protecția solară nu ar trebui să fie iritante sau să provoace alergii ale pielii și ar trebui să poată rezista la radiații UV puternice, fără a-și pierde eficiența sau a forma produși de degradare. Oamenii ar putea inhala ingrediente din spray-urile cu protecție solară și ar putea ingera unele dintre ingredientele pe care le aplică pe buze, astfel încât acestea ar trebui să nu fie dăunătoare plămânilor sau organelor interne. În plus, protecțiile solare includ în mod obișnuit ingrediente care acționează ca „potențiatori de penetrare” pentru a ajuta produsul să adere la piele. Ca urmare, multe substanțe chimice pentru protecția solară sunt absorbite în organism și pot fi măsurate în probe de sânge, lapte matern și urină.

Din aceste motive, FDA (Food and Drug Administration) a propus modificări semnificative în modul în care ingredientele de protecție solară sunt evaluate pentru siguranță. FDA a pus în alertă întreaga industrie a protecției solare, propunând că în doar două cazuri există suficiente informații de siguranță despre ingrediente pentru a determina dacă acestea sunt **sigure și eficiente: oxidul de zinc și dioxidul de titan**. Pentru alte 12 ingrediente, FDA a spus că nu există suficiente date pentru a stabili dacă sunt în siguranță. În special, FDA și-a manifestat îngrijorarea cu privire la absorbția substanțială prin piele a oxibenzonăi, a potențialului său de a afecta nivelul hormonilor (FDA 2019). Studiile de laborator arată că unele filtre UV chimice pot avea un comportament de tip hormon-like, ceea ce ridică întrebări importante cu privire la consecințele neintenționate asupra sănătății umane în urma aplicării frecvente a produselor de protecție solară.

Ingredientele active din produsele de protecție solară funcționează fie ca **filtre UV minerale (fizice)**, fie **chimice**. Cele mai multe produse de protecție solară conțin filtre chimice. Aceste produse includ, de obicei, o combinație de două până la șase dintre următoarele ingrediente active: oxibenzonă, avobenzonă, octisalată, octocriolen, homosalat și octinoxat. Protecțiile solare minerale folosesc oxid de zinc și / sau dioxid de titan. O parte din produse combină oxidul de zinc cu filtrele chimice. În urma evaluării efectelor toxice, filtrele UV au fost încadrate în trei categorii:

- filtre UV cu impact toxicologic redus:

- Mexoryl SX: oferă o protecție UVA bună și stabilă; pătrundere prin piele sub 0,16% la voluntarii umani, nici o dovadă de alergii, nici o dovadă de modificări hormonale.
- Avobenzonă (Butil Metoxidibenzoilmetan): printre cele mai bune protecții UVA dintre filtrele chimice; pătrundere limitată în piele; nu există dovezi de modificări hormonale; posibil sensibilizator alergic la unele tipuri de piele.
- Dioxid de titan: filtru fizic; protecția spectrului larg; fără penetrare a pielii la voluntarii umani; nu există dovezi de modificări alergice sau hormonale.
- Oxid de zinc: filtru fizic; protecție UVA excelentă; mai puțin de 0,01% penetrare în piele; nu există dovezi de modificări alergice sau hormonale.

- filtre UV cu impact toxicologic mediu:

- Octocrylene: protecție cu spectru larg; pătrunderea parțială în piele (0,1% penetrare a pielii, găsită în laptele femeilor însărcinate); posibil sensibilizator al pielii alergic; nu există modificări hormonale.

- Ottosatt (Octisalatt) încapsulat: filtru fizic; protecția spectrului larg, pătrunderea parțială în piele; cazuri rare de alergii ale pielii, fără modificări hormonale.
- Octinoxat (etilohexil metoxicinnamat): protecția spectrului larg; penetrarea pe piele sub 1% (se găsește în laptele femeilor însărcinate); activitate similară hormonilor; dovezi de modificări ale sistemului reproductiv, tiroidian și comportamentale în studiile la animale; sensibilizare alergică minimă.

- filtre UV cu impact toxicologic ridicat:

- Homosalate: protecție cu spectru larg, penetrarea pe piele sub 1% (se găsește în laptele femeilor însărcinate); posibil sensibilizator al pielii alergice; alterări la nivel de estrogeni, androgeni, progesteron.
- Oxibenzona: protecție cu spectru larg; detectat la aproape toți oamenii studiați (bioacumulare); se găsește în laptele matern. Penetrarea pielii de la 1% la 9%.

Din datele existente despre expunerea umană și toxicitatea substanțelor chimice utilizate cel mai des pentru protecția solară, cea mai îngrijorătoare este oxibenzona, care poate provoca reacții alergice ale pielii (Rodriguez 2006) și are efecte anti-androgenice puternice (Krause 2012, Ghazipura 2017).

Conform celui mai recent raport al FDA privind utilizarea produselor cosmetice pentru protecția solară, 73% din protecțiile solare de pe piață oferă o protecție mai mică sau conțin ingrediente care necesită un anumit nivel de atenție.

Dincolo de aspectele legate de siguranța la nivelul stării de sănătate umană și de capacitatea produselor solare de filtrare a radiațiilor UV, alegerea componentelor din aceste produse dermatocosmetice trebuie să aibă în vedere și un impact minim asupra mediului.

Problema biodegradabilității a fost ridicată în ultimii ani, având în vedere că ingredientele chimice active utilizate în marea majoritate a cremelor solare sunt foarte poluante și non-biodegradabile (unele ingrediente active afectează respirația unor vieți marine)

Dintre remediile naturale de protecție și tratare a arsurilor folosite în tratamentele naturiste, menționăm: albușul de ou, glicerina, iaurtul, oțetul diluat, sucurile de aloe vera și de castravete, uleiurile vegetale (de avocado, cocos, dovleac, lavandă, măslină, susan).

O alternativă la problemele de siguranță și sănătate atât pentru om cât și pentru mediu o constituie selectarea unor formule de preparate de protecție solară care se bazează pe substanțe naturale folosite ca atare ori cu minime intervenții de asociere a unor compuși de creștere a SPF.

Astfel, pentru protejarea de radiațiile solare se pot elabora rețete bazate pe asocierea uleiului de camelina cu alte uleiuri și extracte vegetale (cocos, cătină, extract de morcov, nucă, etc.), vitamine, precum și cu un melaj de tip „ecran“ din oxid de zinc și/sau dioxid de titan (oxizi care nu sunt absorbiți și nu dăunează pielii). Prin alegerea concentrației corespunzătoare de melanj (de exemplu, pentru SPF 10 se folosește o concentrație de 5%, pentru SPF 30 – concentrație 15%, pentru SPF 50 - concentrație 25%), preparatele pot fi elaborate în funcție de caracteristicile pielii, culoarea părului și a ochilor, adică cu grad înalt de personalizare.

Utilizare acestor componente active de protecție față de radiațiile solare alături de excipienți precum: dibutil-adipat, dioxid de titan, butilenglicol dicaprilate/caprare, alcool denaturat, acid stearic, glicerină, sulfat de magneziu, tocoferol etc. conduce la obținerea unor preparate cu un raport eficacitate-toxicitate mult superior produselor solare care înglobează filtre chimice de sinteză.

O astfel de cremă constituie un filtru care ecranează deopotrivă radiațiile UV-A și UV-B, are o textură plăcută, este absorbită rapid, poate fi delicat aromată (funcție de combinația de uleiuri), ajută la combaterea acțiunii radicalilor liberi, protejând pielea de îmbătrânirea precoce, evită arsurile

## II.2. Determinarea factorului de protecție solara (SPF) pentru uleiul de camelina

Spectrul agresiunilor la care pielea este susceptibilă include afecțiuni cauzate de traume mecanice, agenți chimici și microbieni, radiații termice, electromagnetice și ultraviolete UVA / UVB. Toate acestea pot genera la nivelul celulelor epidermale un stres oxidativ sever prin interacția cu cromofori și fotosensibilizatori intracelulari, producând leziuni genetice, tranzitorii și permanente, activarea unor căi citoplasmice de transmitere a semnalelor ce controlează creșterea, diferențierea, degradarea și senescența țesutului conjunctiv, precum și activarea cascadei MAP kinazei provocând astfel distrugerea și pierderea colagenului și creșterea materialului elastic. Receptorul (R) epidermal growth factor (EGF) este în relație cu activitatea colagenazei, calea TGF- $\beta$  produce colagenul cutanat și poate fi influențată de radiațiile UV fie prin blocarea expresiei genice a TGF- $\beta$  RII fie prin stimularea formării de SMAD 7 via căii EGF-R.

Efectele nocive ale radiațiilor solare sunt cauzate predominant de regiunea ultravioletă (UV) a spectru electromagnetic, care poate fi împărțit în trei regiuni:

- UVA (de la 320 la 400 nm) - sunt dificil de filtrat și ating straturile mai profunde ale epidermei și dermă; provoacă îmbătrânirea prematură a pielii; sunt responsabile de îmbătrânirea celulară și de apariția cancerului de piele; sunt filtrate doar de unele produse de protecție solara;
- UVB (de la 290 la 320nm) - nu este complet filtrată de stratul de ozon și este responsabilă pentru daunele cauzate de arsurile solare; au efecte rapide și sunt intense în sezonul cald și la mijlocul zilei; sunt filtrate de aproape toate produsele de protecție solara
- UVC (de la 200 la 290 nm) - este filtrată de atmosferă înainte de a ajunge pe pământ.

Deoarece gradul de penetrare a pielii de către radiația ultravioletă depinde de lungimea de undă a acestora, radiațiile cu lungimi de undă cuprinse între 200 și 400 nm sunt mai periculoase pentru organism, au un conținut energetic mai mare iar puterea de penetrație crește cu creșterea lungimii de undă. Astfel, radiațiile UVB penetrează (în funcție și de grosimea pielii în zona de corp iradiată) doar în straturile superficiale ale pielii, în timp ce radiațiile UVA patrund mult mai adânc. Datorită grosimii variabile a epidermei pe suprafața corpului există porțiuni care sunt mai expuse arsurilor și proceselor de fotoîmbătrânire decât altele.

În funcție de lungimea de undă, radiația ultravioletă penetrează tegumentul interacționând cu celulele localizate diferit în straturile pielii (superficial sau profund), astfel ca razele ultraviolete cu lungimea de undă cuprinsă între 280 – 320 nm (UVB) sunt în mare parte absorbite la nivelul epidermului și afectează predominant celulele epidermice (keratinocitele) în timp ce cele cuprinse între 320 – 400 nm (UVA), chiar dacă stratul superficial cornos îndeplinește funcția de barieră optică determinând reflexia, dispersia și absorbția radiației incidente, cea mai mare parte a acestor radiații patrund în profunzime și pot interacționa atât cu keratinocitele epidermice cât și cu fibroblastele dermice. Se estimează că radiațiile UVA

pot fi absorbite de diferite componente ale sangelui, la nivelul vaselor de sange din derma. Radiatia UVB poate induce leziuni la nivelul moleculei de ADN fie prin interactia directa cu acesta fie prin intermediul speciilor reactive de oxigen generate sub incidenta radiatiilor ultraviolete scurte. Spre deosebire de UVB, UVA actioneaza in special prin inducerea speciilor reactive de oxigen (ROS), care ulterior pot exercita multiple efecte: peroxidarea lipidelor, activarea factorilor de transcriptie si generarea leziunilor la nivelul catenelor ADN. Leziunea specifica indusa de radiatia UV la nivelul ADN consta in generarea de fotoprodusi - dimeri pirimidinici. Radiatiile UVA actioneaza ca inductori ai enzimelor responsabile de sinteza poliaminelor, compusi ce accelereaza fazele ciclului celular, stimuland proliferarea celulara si implicit ingrosarea epidermei si a stratului cornos.

Majoritatea modificarilor in pielea agresata de radiatile solare sunt observate in derma, fiind caracterizate din punct de vedere histologic, prin suprafete cu atrofie si hiperplazie severa, cu keratinocite caracterizate printr-un grad de atipie nucleara ridicat, atrofia melanocitelor cu dezintegrarea fibrelor proteice ce formeaza matricea extracelulara. Este observata scaderea nivelului colagenului maturat si in special al celui de tip VII ce contribuie la stabilizarea jonctiunii epiderma-derma precum si o intensificare a depunerilor de glicozaminoglicani si a unui material elastotic distrofic in profunzimea dermei si o severa dezorganizare a tropoelastinei si fibrilinei. Fibrele elastice, ce constituie elemente structurale ale tesutului conjunctiv, contin un miez, amorf si hidrofob, format din molecule de elastina, care este inconjurat de miofibrile bogate in fibrilina. Deoarece aceasta retea de fibre elastice se extinde de la jonctiunea derma-epiderma spre profunzimea dermei, modificarile observate conduc la pierderea elasticitatii pielii. In afara de modificarile observate in organizarea componentelor structurale ale tesutului conjunctiv, fibroblastele in procesul de foto-imbatranire adopta un fenotip stelat, cu un reticul endoplasmatic rugos activat indicand o activitate biosintetica crescuta. Toate aceste modificari reflecta, pe de alta parte o serie de disfunctii in reglarea cresterii keratinocitelor expuse la radiatia ultravioleta, a caror cauza nu este inca elucidata, dar se considera ca citokinele derivate din keratinocite sunt, cel putin partial, implicate in acest proces. Anomaliile in pigmentatie pot fi mediate de citokinele care regleaza cresterea, diferentierea si sinteza pigmentilor melaninici din melanocite. Tot la acest nivel, senescenta melanocitelor si a celulelor Langerhans se manifesta prin scadere numerica si reducerea activitatii functionale (scade capacitatea de reparare a ADN cu cresterea instabilitatii genetice), scade numarul de melanozomi si metabolismul melaninei. In cazul celulelor Langerhans din pielea agresata de radiatia ultravioleta se observa o scadere a numarului lor precum si o serie de modificari morfologice ce contribuie la diminuarea capacitatii de prezentare a antigenelor si de migrare (Toyoda si Bhawan, 1997). Scharffetter-Kochanek si colaboratorii sai in 2000, utilizand o linie transgenica de soarece a demonstrat ca activitatea genei *CAT* reporter din promotorul elastinei este crescuta in urma iradierii UV.

Stiintific a fost evidentiat faptul ca pielea expusa razelor solare "imbatraneste" mult mai rapid si mai intens decat cea neexpusa datorita disparitiei pariale a fibrelor de colagen si aparitia unui material amorf ce contine o cantitate marita de elastina (8-13g elastina la 100g piele expusa fata de 2.4g la 100g piele neexpusa) (Chirita GH, 1993). Colagenul, in calitate de proteina majora a tesutului epidermal, este afectata in mod direct si constant de actiunea

radicalilor liberi generati de radiatiile UV solare, fumul de tigara, agenti poluanti, dieta necorespunzatoare, stress, cosmetice agresive, odihna insuficienta, factori care contribuie la scaderea tonusului facial si a capacitatii pielii de a remedia defectele produse. In functie de doza administrata, de intensitatea expunerii si de starea morfofunctionala a pielii efectele radiatiilor ultraviolete asupra colagenului din derma se manifesta fie prin ruperea lanturilor polipeptidice ale macromoleculei fie prin cresterea numarului de legaturi intermoleculare marind astfel stabilitatea structurala (Chirita GH, 1993). In afara modificarilor post-tranzlazionale ale moleculelor de colagen nou sintetizate, factorii de mediu si in special expunerea prelungita la radiatii UV afecteaza o serie de metaloproteinaze matriceale (MMP), serin proteinaze si alte proteinaze, responsabile pentru scindarea diferitelor componente ale tesutului conjunctiv. Aceste enzime care se gasesc in fibroblaste dermice si in celulele inflamatorii au o activitate crescuta, explicand degradarea matricei extracelulare.

O mare parte a constituentilor celulari reprezinta tinte ale atacului speciilor reactive de oxigen generate de iradierea UVA. Astfel, radicalii hidroxil reactioneaza cu aproape toate tipurile de molecule din componenta celulelor: glucide, fosfolipide, nucleotide, acizi organici si aminoacizi (Kohen si colab., 1995). Modificarile oxidative ale proteinelor sub actiunea speciilor reactive de oxigen pot determina inactivarea enzimelor si a proteinelor membranare (Dovrat si Weinreb, 1999), si pot produce modificari structurale soldate cu destabilizarea morfologiei celulelor atunci cind tinta atacului oxidativ sunt elementele citoscheletului (Somosy, 2000). In cazul enzimelor, efectul speciilor reactive de oxigen consta, in general, in diminuarea capacitatii catalitice, determinata frecvent de oxidarea gruparilor sulfhidril si modificarea gruparilor amino prin malonilare (Dumitru si Nechifor, 1994; Dean si colab., 1997). Amplourea modificarilor este determinata de localizarea relativa a situsului de formare a speciilor reactive de oxigen, a sistemelor antioxidante si a proteinei tinta. O tinta majora a atacului radicalic sunt lipidele membranare, datorita prezentei dublelor legaturi din structura acizilor grasi polinesaturati (acidul linoleic - C18:2  $\Delta$ , acidul linolenic - C 18:3  $\Delta$  si acidul arahidonic - C 20:4  $\Delta$ ). Peroxidarea lipidelor membranare afecteaza structura si functiile membranei plasmaticice si a membranelor organitelor perturband astfel potentialele transmembranare, fluxurile ionice si transportul transmembranar, inactivand receptorii de membrana si deregland caile de semnalizare. Prin procesul de peroxidare lipidica se modifica nu numai componentele membranare de natura lipidica, ci si proteinele, in urma reactiei unor aminoacizi (Cys, Lys) cu produsii aldehydici de peroxidare (dialdehida malonica, hexanal, 4-hidroxi-nonenal). Radicalii liberi ai oxigenului, de tipul anionului superoxid si a radicalului hidroxil, generati de absorbtia fotonilor UVA de catre diferiti cromofori din mediul celular (chinone, steroidi, porfirine, flavin coenzime si proteine cu grupari hem de tipul citocromi, peroxidaze) sunt citotoxici si promotori degradarilor tisulare deoarece prin legarea acestora de acizii grasi nesaturati din membrana celulara se initiaza peroxidarea lipidica potentand astfel stress-ul oxidativ care a initiat procesul. (Peterhans, 1997, Manibusan M.K. et al., 2007). Peroxidul de hidrogen se formeaza prin iradierea UVA a triptofanului, iar anionii superoxid pot fi produsii prin iradierea UVA a NADH si NADPH (Cunningham si colab., 1985). In prezenta ionilor de fier, peroxidul de hidrogen si anionii superoxid pot participa *in vivo* la reactia Haber-Weiss soldata cu producerea radicalilor hidroxil.



Corelarea tuturor informatiilor a contribuit la emiterea ipotezei ca degradarea dermica datorata radiatiilor UV este urmata de un proces reparator imperfect asemanator celui intalnit in vindecarea ranilor prin arsura termica. Aceasta reparare imperfecta conduce la un deficit in integritatea structurala a dermei, intalnita in literatura de specialitate sub numele de *cicatrice solara*, care conduce la o acumulare de cicatrici solare daca tesutul este expus repetitiv la iradiere cu raditaitii UV intermitente, avand ca rezultat final ridarea vizibila a pielii. Intelegerea mecanismelor care stau la baza fotoimbatranirii permite stabilirea unei strategii de protectie si reparatie a acestor leziuni. Spre exemplu cresterea productiei de melanina in piele este una dintre cele mai eficace cai de protectie contra radiatiilor solare, astfel Gilchrest si Eller in 1999 au aratat ca dinucleotidele timinice (pTpT) ofera protectie pielii in procesele de foto-imbatrinire si foto-carcinogeneza. Imbunatatirea pigmentarii endogene a organismului si aplicarea unor substante protectoare exogene au si o valoare profilactica. Trebuie subliniat faptul ca protectia prin pigmentarea cu melanina este dependenta nu numai de cantitatea totala de pigment ci si de compozitia sa chimica. Astfel, eumelanina este componenta de culoare neagra a melanozomilor care are un efect protector datorita capacitatii sale de a forma compusi stabili cu radicalii liberi, in timp ce phaeomelanina este componenta de culoare galbena ce nu are efect protector, ci dimpotriva actioneaza ca fotosensibilizator. Pe langa stimularea producerii de melanina de catre melanocite, radiatiile UVA determina efectul de pigmentare imediata ce consta in foto-oxidarea melaninei pre-existente, conducand la o amplificare pe termen scurt a pigmentarii, dar care nu confera protectie fata de expunerea ulterioara la radiatii UV. O atentie speciala a fost acordata unui derivat al vitaminei A, acidul *all-trans* retinoic (RA), care anuleaza activarea AP-1 prin inhibitia inductiei proteinei *c-Jun*. Fisher si colab. [1998] considera ca RA actioneaza cu receptorii sai nucleari, inducand expresia fie a unui inhibitor al tranzlatiei proteinei *c-Jun*, fie al unui activator al degradarii ei.

În acest context s-a dezvoltat conceptul de *protecție solară*, care reprezintă totalitatea metodelor, materialelor și substanțelor care protejează omul împotriva efectelor radiațiilor UV.

- un prim grup de elemente de protecție cuprinde măsurile menite să prevină contactul prelungit cu radiațiile UV prin evitarea expunerii la soare în mijlocul zilei, intervenții asupra spațiilor de trecere a radiațiilor (ecranări ale geamurilor de la ferestrele locuinței / biroului ori mijloacelor de transport), echiparea cu elemente vestimentare adecvate, ochelari de soare;
- un alt grup de măsuri vizează protecția internă, care se concretizează în potențarea abilităților corpului de a contracara efectele radiațiilor UV - Consumarea unor alimente care conțin antioxidanți capabili să acționeze împotriva stresului oxidativ și a efectelor radicalilor liberi din organism, imprimând pielii rezistență la radiațiile solare,

Datorită tuturor acestor aspecte, substanțele bioactive cu rol in protecția solară sunt acum incluse in formulele cosmetice ale produselor de ingrijire cu aplicatie zilnica. Utilizarea regulată a acestor produse reduc riscul instalarii efectelor nocive induse de radiatiile ultraviolete, cu conditia ca in compozitia lor sa fie introdusa o substanta foarte eficienta. Eficacitatea unei protecții solare este de obicei exprimată de factorul de protecție solară

(SPF), - indică gradul de protecție împotriva arsurilor solare al fiecărui produs printr-un număr care arată de câte ori este mai mare timpul care trece de la aplicarea cremei/ lotiune până la înroșirea pielii, față de timpul de înroșire a pielii fără aplicarea cremei. Valorile acestui factor variază de la 6 la 50+. În termeni standardizați, pentru o înțelegere facilă, toate cremele de protecție solară se supun următoarei clasificări:

- cu nivel scăzut de protecție: SPF 6 - absorb 87,5% din radiații
- cu nivel mediu de protecție: SPF 12 - absorb 91,7% din radiații
- cu nivel înalt de protecție: SPF 15-25
- cu nivel foarte ridicat: SPF 30-50 - absoarbe 98%
- cu nivel extrem de ridicat: SPF 50+

Zilnic se aplica pe piele medicamente si produse cosmetice care pot strabate stratul cornos, epiderma, derma, vasele de sange, etc. In mod normal se impune testarea eficacitatii acestor preparate, gradul de absorbtie, capacitatea de a induce iritatii si alte reactii adverse. Pana in prezent astfel de teste erau efectuate pe animale care au o arhitectura diferita a pielii si un metabolism distinct. Datorita acestor observatii si presiunii publice de a limita studiile pe animale exista tendinta ca acestea sa fie inlocuite cu teste *in vitro* pe modele care mimeaza structura pielii umane. Evaluarea factorului de protectie solara a produselor cosmetice cu aplicatie topica poate fi efectuata prin metode *in vitro* sau *in vivo*, in mod ideal fiind determinat prin fototestarea voluntarilor umani. Datorita complexitatii si costurilor foarte mari inregistrate in cazul evaluarilor *in vivo*, in ultimii ani s-a dedicat mult efort pentru dezvoltarea tehnicilor *in vitro* de evaluare a factorului de protectie solara a preparatelor. In urma acestor studii au fost dezvoltate si optimizate doua tipuri de metode instrumentale:

- o metoda ce presupune masurarea absorbantei / transmitanta produsului depus sub forma de film pe placi de cuarț sau biomembrane
- metode în care caracteristicile de absorbție ale agenților de protecție solară sunt determinate pe baza analizelor spectrofotometrice a soluțiilor diluate

In 1986, Mansur si colaboratorii dezvoltat o ecuatie matematica care substitue in vitro metoda propusa de Sayer in 1979, folosind un spectrofotometru UV si urmatoarea ecuatie:

$$SPF_{spectrophotometric} = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

unde EE – spectru cu efecte eritemale

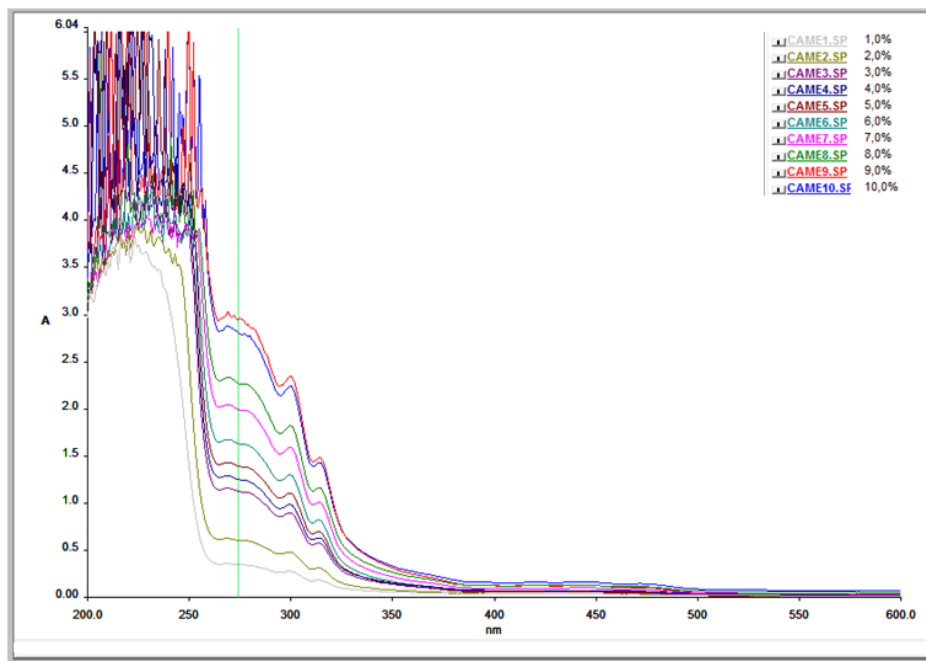
I (l) - spectrul intensității solare;

Abs (l) - absorbția protecției solare a produsului ;

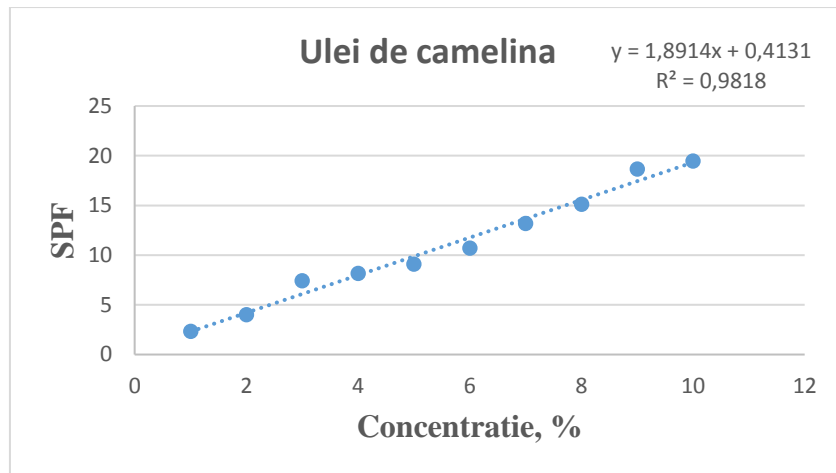
CF - factor de corecție (= 10).

S-a stabilit drept standard de protecție solară o formulă care conține 8% omosalat și care a prezentat o valoare SPF egală cu 4, determinată prin măsurători spectrofotometrice. Valorile factorului de corecție atribuit fiecărei lungimi de undă (EE x I) sunt constante (au fost determinate de Sayer în 1979). Această metodă de evaluare cantitativă este utilă în diferite etape ale dezvoltării produsului pentru un screening rapid.

Scopul acestui studiu a fost determinarea valorilor SPF pentru diferite concentratii de ulei de camelina prin inregistrarea spectrului de absorbtie in domeniul 290 – 320 nm cu ajutorul spectrofotometrului Lambda UV\_VIS 250 PerkinElmer si aplicarea ecuatiei prezentate mai sus. In continuare sunt prezentate spectrele de absorbtie pentru uleiul de camelina preset la rece si valorile SPF calculate.



Lungimea de unda	290	295	300	305	310	315	320	SPF
Factor de corectie	<b>0,015</b>	<b>0,0817</b>	<b>0,2874</b>	<b>0,3278</b>	<b>0,1864</b>	<b>0,0837</b>	<b>0,018</b>	
1,0%	0,2884	0,2695	0,2797	0,2288	0,1811	0,184	0,1364	2,333
2,0%	0,5002	0,4645	0,4852	0,3922	0,3026	0,3084	0,2213	3,997
<b>3,0%</b>	<b>0,9288</b>	<b>0,8606</b>	<b>0,9007</b>	<b>0,7316</b>	<b>0,5612</b>	<b>0,5712</b>	<b>0,4114</b>	<b>7,427</b>
<b>4,0%</b>	<b>1,0243</b>	<b>0,9462</b>	<b>0,9872</b>	<b>0,8033</b>	<b>0,6154</b>	<b>0,6261</b>	<b>0,4511</b>	<b>8,150</b>
<b>5,0%</b>	<b>1,1456</b>	<b>1,0578</b>	<b>1,1094</b>	<b>0,9002</b>	<b>0,6794</b>	<b>0,6934</b>	<b>0,4906</b>	<b>9,110</b>
<b>6,0%</b>	<b>1,3454</b>	<b>1,2415</b>	<b>1,304</b>	<b>1,058</b>	<b>0,7983</b>	<b>0,8142</b>	<b>0,5795</b>	<b>10,706</b>
<b>7,0%</b>	<b>1,6511</b>	<b>1,523</b>	<b>1,5965</b>	<b>1,3057</b>	<b>0,988</b>	<b>1,0057</b>	<b>0,7253</b>	<b>13,174</b>
<b>8,0%</b>	<b>1,8924</b>	<b>1,7415</b>	<b>1,8265</b>	<b>1,5035</b>	<b>1,1382</b>	<b>1,1584</b>	<b>0,8444</b>	<b>15,128</b>
<b>9,0%</b>	<b>2,333</b>	<b>2,1414</b>	<b>2,2454</b>	<b>1,8629</b>	<b>1,4029</b>	<b>1,4269</b>	<b>1,048</b>	<b>18,657</b>
<b>10,0%</b>	<b>2,4415</b>	<b>2,2488</b>	<b>2,3513</b>	<b>1,9449</b>	<b>1,4537</b>	<b>1,4766</b>	<b>1,0791</b>	<b>19,476</b>



Valoarea SPF este o măsură cantitativă a eficacității unei formulări cosmetice de protecție solară. Pentru a fi eficient în prevenirea arsurilor solare și a altor leziuni ale pielii, un produs de protecție solară ar trebui să aibă o gamă largă de absorbție între 290 și 400 nm. În urma prelucrarilor matematice a rezultatelor instrumentale s-a constatat faptul că uleiul de camelina purificat printr-o tehnologie dezvoltată în cadrul acestui proiect prezintă proprietăți de fotoprotecție începând cu doza de 3%. Prin introducerea acestui ulei în diferite preparate cosmetice, în funcție de concentrația introdusă, avem posibilitatea formulării de lotiuni cu:

- nivel scăzut de protecție: SPF 6 → 3% - 4% ulei de camelina în compoziția preparatului
- nivel mediu de protecție: SPF 12 – 7% ulei de camelina în compoziția preparatului
- nivel înalt de protecție: SPF 15-25 - 8% - 10% ulei de camelina în compoziția preparatului

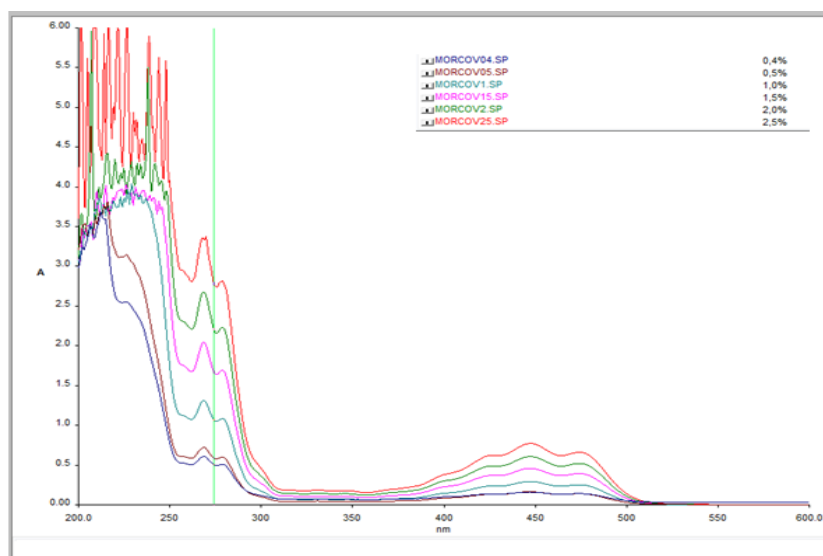
### CAPITOLUL III: TESTAREA EFICACITATII PRODUSULUI IN COMBINATIE CU ALTE ULEIURI VEGETALE

Usurinta de penetrare a radiatiei ultraviolete este dependenta de lungimea de unda, astfel la lungimi de unda mici, doar o parte neinsemnata a radiatiilor UVB patrunde in sistemul capilar al epidermei unde declanseaza o cascada de reactii biochimice ce stimuleaza formarea melaninei. Pentru ca aceasta cascada de reactii sa fie activata este nevoie de o stimulare printr-o doza de radiatii UVB foarte apropiata de cea care cauzeaza inrosirea pielii. Peste doza minima eritemala (MED) pielea devine rosie in decurs de 2 – 3 ore, roseata dispare dupa aproximativ 3 zile inasa, exista situatii cand pot sa apara edeme si descuamarea pielii. Lungimea de unda care provoaca inrosirea maxima este de 305nm.

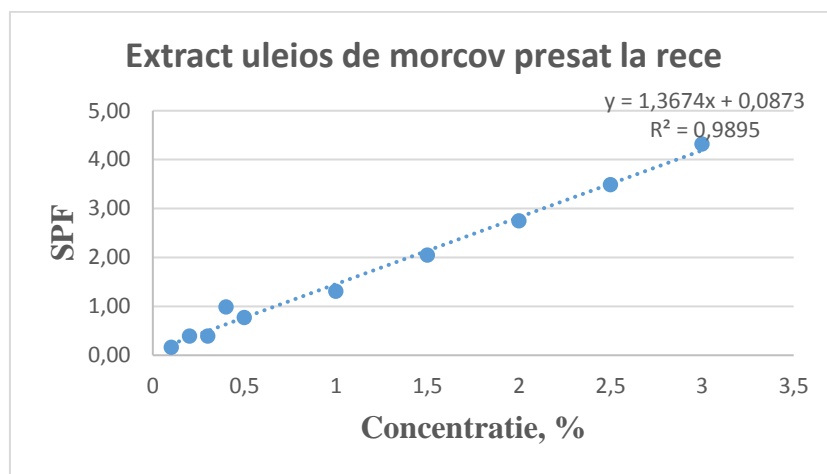
Radiatiile UVA nu sunt asociate direct cu eritemul iar potentialul lor este de 1000 de ori mai mic decat al radiatiilor UVB. Cu toate acestea, radiatiile UVA devin periculoase datorita profunzimii penetratiei si a potentialului tumoral. Efectul de bronzare cauzat de biosinteza melaninei sub actiunea radiatiilor UVA este instabil si mult redus comparative cu cel instalat sub actiunea radiatiilor UVB.

Lotiunile de protectie solara sunt utilizate cu scopul blocarii acestor radiatii si de a lasa sa penetreze razele cu lungimi de unda mai mare, care favorizeaza procesul de bronzare. In compozitia acestor preparate sunt introduse substante care au fie functiunea de absorbanta fie de bariera fizica opaca. O serie de produse izolati din surse vegetale pot sa absoarba radiatiile UV, dar capacitatea lor de fotoprotectie este moderata comparativ cu compusii obtinuti prin sinteza, in schimb compozitia lor complexa cu proprietati antioxidante si regeneratoare confera un plus valoare in formularea produselor de uz topic. Pentru a creste calitatea protectie, numeroase preparate antisolare sunt formulate cu amestecuri de agenti protectori, care prezinta absorbanta in domeniile UVA sau UVB, cat si cu agenti de blocare a radiatiilor solare ultraviolete. Cu scopul de a imbunatati proprietatile de filtru UV a uleiului de camelina prin combinarea cu alte produse vegetale cu potentiala protectie UV, in cadrul acestei etape s-a realizat un studiu extins de evaluare a indecelui SPF a extractului uleios de morcov presat la rece, extractului uleios de nuca presat la rece, uleiului de cocos si a uleiului de masline presate la rece, iar rezultatele experimentale sunt prezentate in continuare.

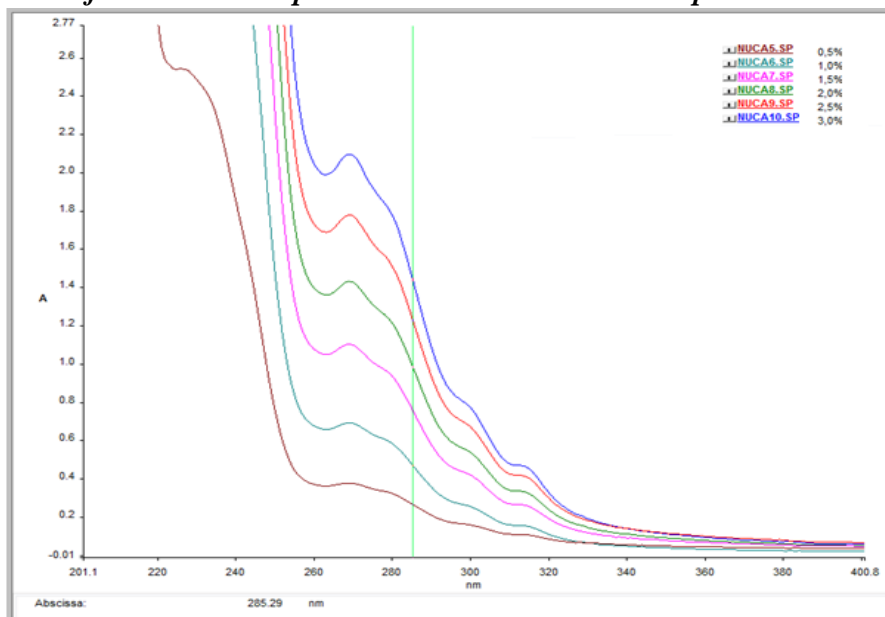
#### a) Evaluarea factorului SPF pentru Extract uleios de morcov presat la rece



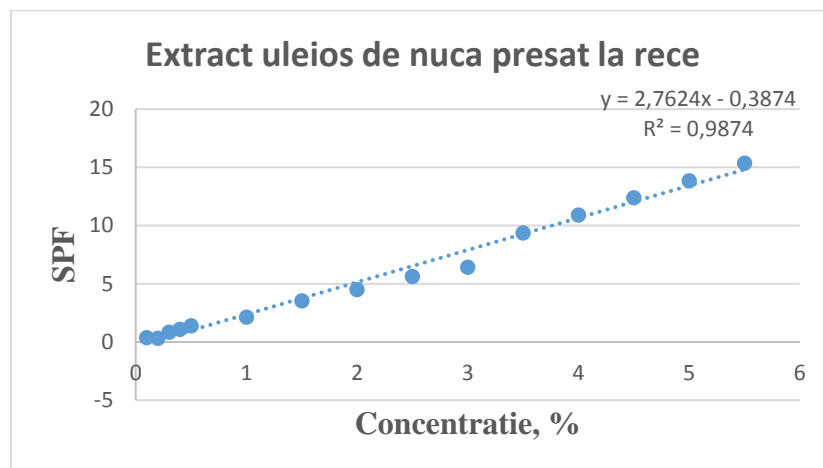
Lungimea de unda	290	295	300	305	310	315	320	SPF
Factor de corectie	0,015	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0837	0,018	
0,1%	0,0416	0,0261	0,0202	0,0139	0,0103	0,0098	0,0098	0,16
0,2%	0,0884	0,0583	0,047	0,035	0,0276	0,0267	0,0256	0,39
0,3%	0,1121	0,067	0,0506	0,0326	0,0223	0,0215	0,0205	0,39
0,4%	0,2096	0,1417	0,1168	0,0899	0,0736	0,0723	0,0705	0,99
0,5%	0,218	0,1315	0,1	0,0658	0,0453	0,0442	0,0422	0,77
1,0%	0,39	0,2296	0,1724	0,1099	0,0727	0,0701	0,0666	1,31
1,5%	0,6123	0,36	0,2698	0,1719	0,1136	0,1099	0,1037	2,05
2,0%	0,8165	0,4808	0,361	0,2307	0,1531	0,1481	0,1399	2,74
2,5%	1,0395	0,6115	0,4584	0,2928	0,1942	0,1871	0,1773	3,48
3,0%	1,2543	0,7462	0,5623	0,3664	0,2482	0,2393	0,2272	4,32
5,0%	1,9854	1,1855	0,8862	0,59	0,3946	0,3772	0,3575	6,86



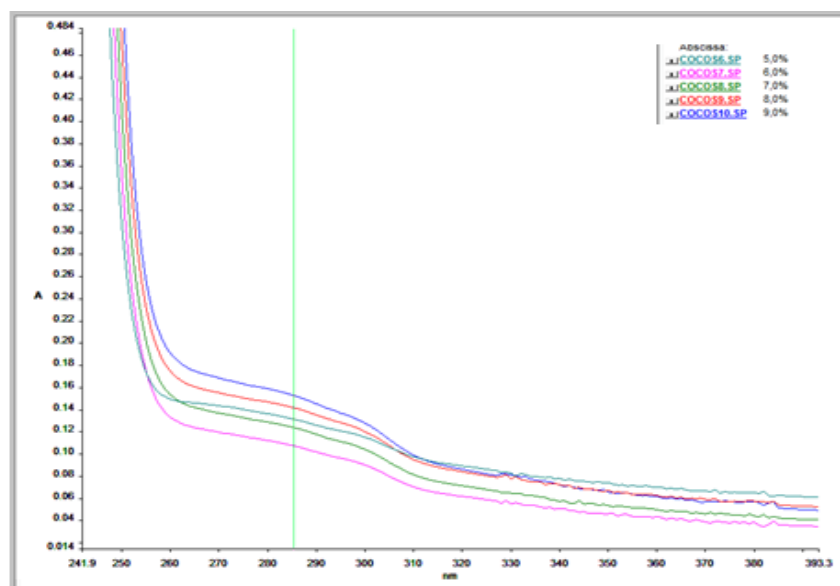
**b) Evaluarea factorului SPF pentru Extract uleios de nuca presat la rece**



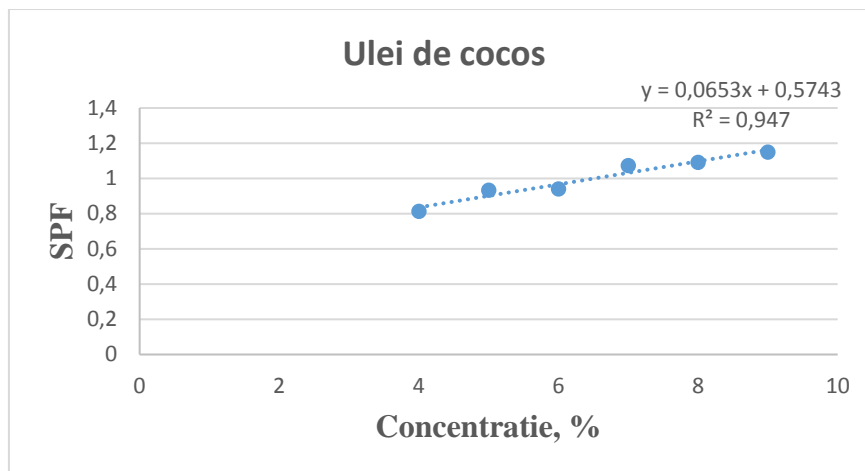
Lungimea de unda	290	295	300	305	310	315	320	SPF
Factor de corectie	0,015	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0837	0,018	
0,1%	0,0533	0,0454	0,0422	0,0361	0,0315	0,0299	0,0258	0,373
0,2%	0,0575	0,0453	0,0409	0,0318	0,0246	0,0234	0,0167	0,336
0,3%	0,1273	0,1056	0,0971	0,0809	0,0681	0,0647	0,0527	0,840
0,4%	0,1672	0,1383	0,1274	0,1056	0,0887	0,085	0,069	1,099
0,5%	0,211	0,1741	0,1599	0,1327	0,1116	0,1068	0,0864	1,382
1%	0,358	0,2838	0,2566	0,202	0,1599	0,1518	0,1112	2,130
1,5%	0,5819	0,465	0,4213	0,336	0,2699	0,2563	0,1928	3,532
2%	0,7511	0,5972	0,5394	0,4286	0,3416	0,3238	0,2406	4,507
2,5%	0,9375	0,7456	0,6728	0,536	0,4259	0,4042	0,3009	5,627
3%	1,0903	0,8604	0,7739	0,6109	0,479	0,4534	0,3301	6,425
3,5%	1,6004	1,2569	1,1283	0,8903	0,6949	0,6563	0,4774	9,359
4%	1,8579	1,4621	1,3121	1,0395	0,8141	0,7678	0,5643	10,914
4,5%	2,109	1,6561	1,4903	1,1801	0,9245	0,871	0,6434	12,389
5%	2,3554	1,8554	1,6642	1,3192	1,0315	0,9717	0,7188	13,842
5,5%	2,6364	2,0578	1,8435	1,4649	1,1444	1,0771	0,8006	15,357



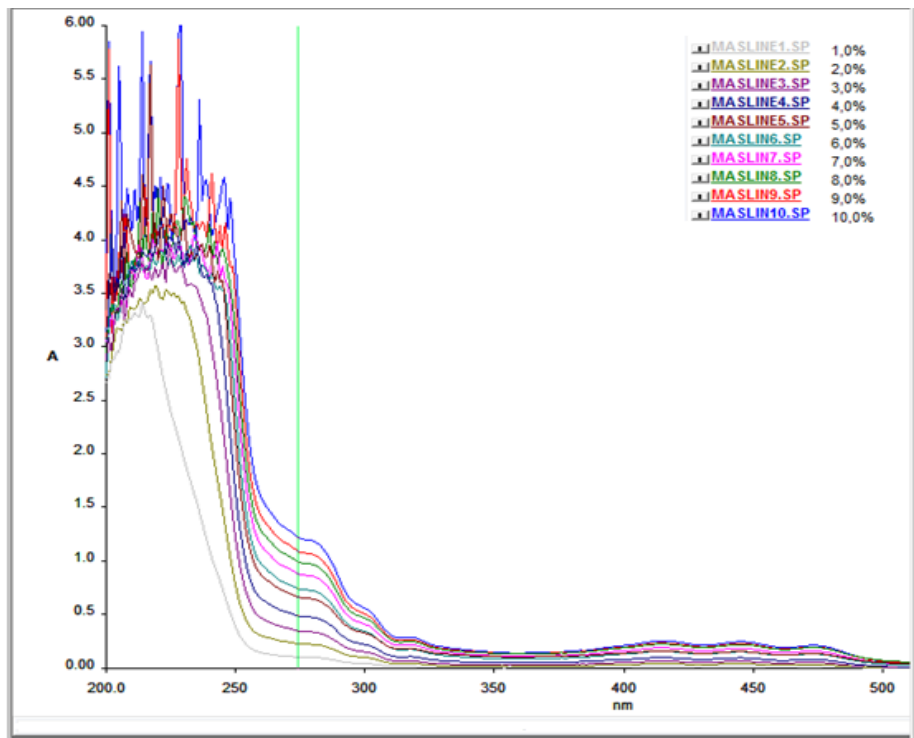
**c) Evaluarea factorului SPF pentru uleiul de cocos**



Lungimea de unda	290	295	300	305	310	315	320	SPF
Factor de corectie	0,015	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0837	0,018	
4%	0,102	0,0964	0,0902	0,0799	0,0704	0,0652	0,0619	0,812
5%	0,0979	0,0963	0,0949	0,0931	0,0913	0,0899	0,0889	0,933
6%	0,1178	0,1112	0,1042	0,0925	0,0815	0,0752	0,0716	0,939
7%	0,1261	0,1209	0,1151	0,1062	0,0977	0,0923	0,0893	1,073
8%	0,1355	0,1284	0,1201	0,108	0,095	0,0883	0,0841	1,091
9%	0,1454	0,137	0,1279	0,1132	0,0988	0,091	0,0864	1,148

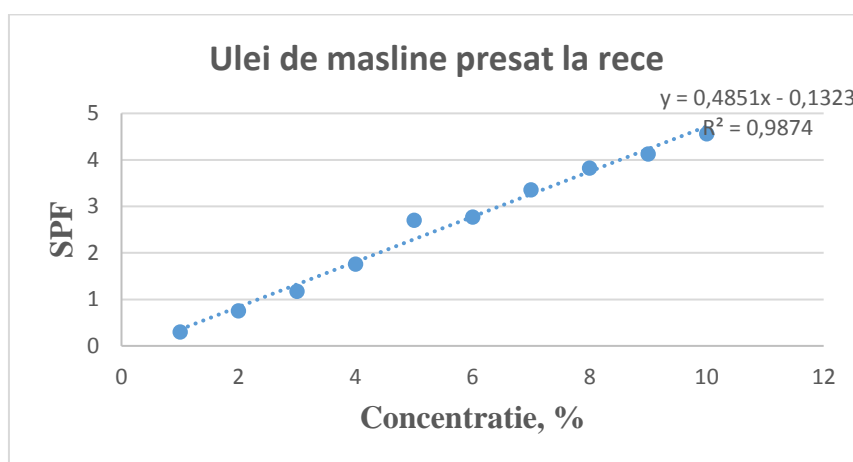


**d) Evaluarea factorului SPF pentru uleiul de masline presat la rece**





Lungimea de unda	290	295	300	305	310	315	320	SPF
Factor de corectie	0,015	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0837	0,018	
1,0%	0,0642	0,0468	0,0411	0,0291	0,0157	0,0139	0,0132	0,305
2,0%	0,1491	0,1111	0,0979	0,0732	0,0447	0,0404	0,0394	0,759
3,0%	0,2295	0,171	0,1505	0,1141	0,0711	0,0646	0,0629	1,179
4,0%	0,3279	0,2478	0,2194	0,1713	0,1135	0,1039	0,1016	1,761
5,0%	0,463	0,3615	0,325	0,2642	0,1911	0,178	0,1746	2,702
6,0%	0,5045	0,3809	0,3394	0,2701	0,1874	0,1724	0,1691	2,772
7,0%	0,6042	0,4579	0,4086	0,3274	0,2313	0,2128	0,209	3,359
8,0%	0,6848	0,5195	0,464	0,3737	0,265	0,2439	0,2405	3,827
9,0%	0,7499	0,5661	0,5027	0,4036	0,2828	0,2589	0,2555	4,133
10,0%	0,8357	0,6292	0,5565	0,4458	0,3093	0,2809	0,2774	4,562

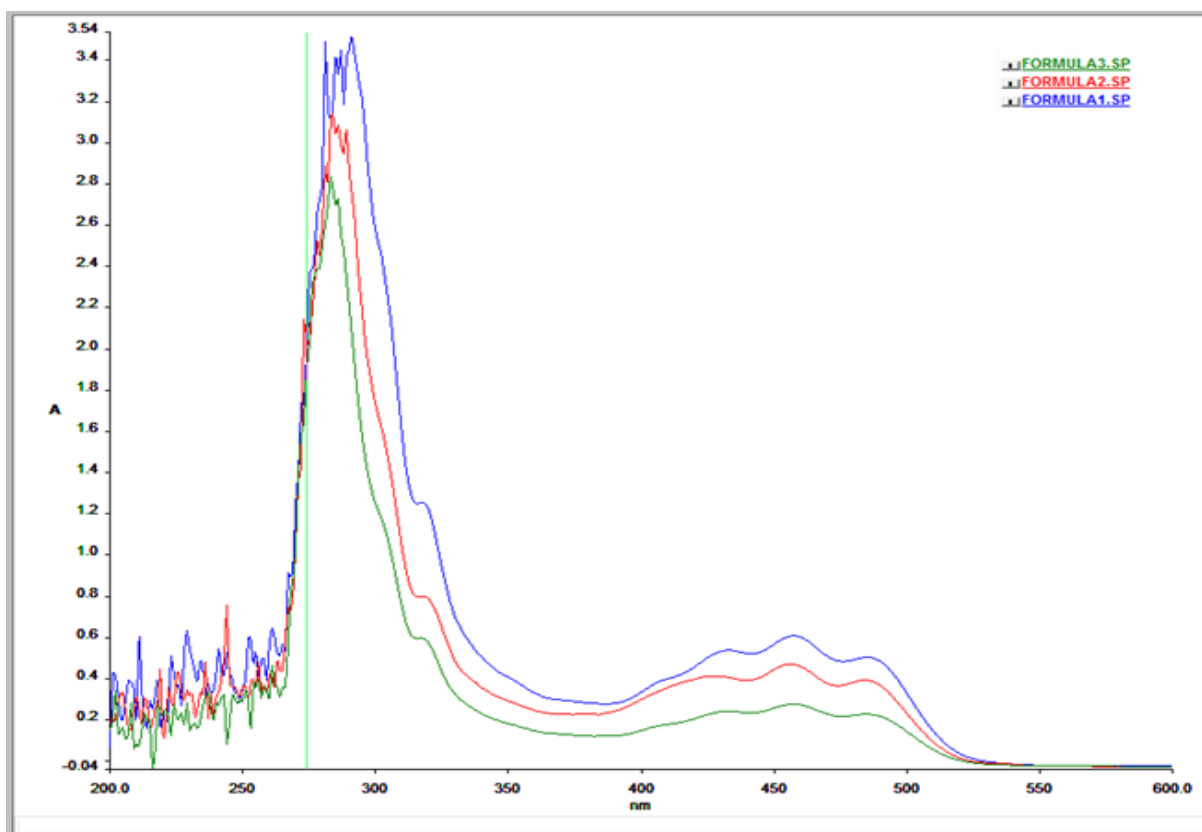


Compusul evaluat	SPF	Nivel protectie
Extract uleios de morcov presat la rece - 5%	6.86	scazut
Extract uleios de nuca presat la rece 3% - 4%	9.4 -10.9	scazut
4.5%	12.4	mediu
5.5%	15.36	inalt
Ulei de cocos	-	-
Ulei de camelina 3% - 4%	7.4 – 8.15	scazut
7%	13.17	mediu
8% - 10%	15.1 – 19.5	inalt
Ulei de masline presat la rece	-	-

In general un preparat poate fi comercializat ca preparat antisolara daca are un indice SPF de cel putin 15. Aceste produse cu indice SPF mai mare sau egal cu 15 sunt dificil de formulat, deoarece concentratia principiului activ trebuie sa fie mare iar proprietatile fizice ale filtrelor UV trebuie sa fie bine cunoscute deoarece acestea au o importanta majora in stabilirea formulelor cosmetice. Inregistrarea spectrelor de absorbtie pentru extractele uleioase si a uleiurilor luate in studiu a evidentiat faptul ca uleiul de nuca presat la rece (SPF 15.36) poate fi utilizat alaturi de uleiul de camelina (SPF 19.5) drept agent de protectie solara in schimb uleiul de masline si cel de cocos pot fi introduse in formulele preparatelor topice ca emolienti si agenti de hidratare si nutritivi. Pe baza acestor observatii ce sunt in concordanta cu

literatura de specialitate s-au dezvoltat trei variante de produs ale caror formule sunt prezentate in tabelul de mai jos, cu scopul evaluarii eficacitatii uleiului de camelina in combinatie cu alte uleiuri vegetale. Produselor obtinute au fost testate in conditii similare cu componentele individuale.

	<b>Formula 1</b>	<b>Formula 2</b>	<b>Formula 3</b>
Extract uleios de morcov presat la rece	15.7%	11.8%	11.8%
Extract uleios de nuca presat la rece	55%	41.25%	41.25%
Ulei de cocos	39.6%	29.7%	79.7%
Ulei de camelina	8%	6%	6%
Ulei de masline presat la rece	31.2%	73.4%	23.4%



<b>Lungimea de unda</b>	<b>290</b>	<b>295</b>	<b>300</b>	<b>305</b>	<b>310</b>	<b>315</b>	<b>320</b>	<b>SPF</b>
<b>Factor de corectie</b>	<b>0,015</b>	<b>0,0817</b>	<b>0,2874</b>	<b>0,3278</b>	<b>0,1864</b>	<b>0,0837</b>	<b>0,018</b>	
Formula 1	3,4398	3,208	2,5787	2,2117	1,5841	1,2518	1,2231	<b>22,01872</b>
Formula 2	2,8714	2,1807	1,7328	1,4497	1,0329	0,801	0,7894	<b>14,68238</b>
Formula 3	2,2255	1,5719	1,2504	1,0596	0,7473	0,5957	0,5751	<b>10,68017</b>

In urma evaluarii factorului SPF a preparatelor obtinute prin combinarea extractelor uleioase analizate a evidentiat imbunatatirea indecelui de protectie solara fata de cel inregistrat pentru componentele individuale.

## CONCLUZII

Rezultatele si observatiile cercetarilor efectuate au condus la:

- dezvoltarea, optimizarea si standardizarea unei tehnologii de obtinere a uleiului de camelina cu randamente crescute si concentratii optime de principii active
- obtinerea uleiului de camelina presat la rece cu un grad ridicat de puritate si o compozitie optima pentru utilizarea in preparatele cosmetice. Acest produs a fost introdus intr-un studiu de stabilitate predictiv pe termen lung, si care va sta la baza formularii unui produs de uz topic
- stabilirea parametrilor calitativi si cantitativi utilizati in screening-ul analitic au permis intocmirea proiectului de specificatie tehnica a uleiului de camelina.
- selectarea unor variante de formulare a unui produs dermatocosmetic de protectie solara cu un raport eficacitate-toxicitate mult superior produselor solare care inglobează filtre chimice de sinteză.

## DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETARII

1. Simona COPACI, Laura OLARIU, Roxana NIȚĂ, Ștefana JURCOANE, Acad. Prof. Emerit Dr. Natalia ROȘOIU, Drd. Cristina Nicoleta DĂNĂILĂ (STOICA), CERCETĂRI PRIVIND PURIFICAREA ULEIULUI DE CAMELINĂ UTILIZAT ÎN COMPOZIȚIA PRODUSELOR COSMETICE, **Conferința națională de toamnă a AOSR de la Brașov, 2019 (prezentare orală)**
2. Simona COPACI, Laura OLARIU, Roxana NIȚĂ, Manuela Diana ENE, Ștefana JURCOANE, Cristina Nicoleta DĂNĂILĂ (STOICA), Natalia ROȘOIU, RESEARCH ON THE PURIFICATION OF CAMELINA OIL USED IN THE COMPOSITION OF COSMETIC PRODUCTS, **Lucrare publicată în ANNALS, Series on BIOLOGICAL SCIENCES, vol. 8, nr.2, 2019**

## BIBLIOGRAFIE

1. Ecaterina Merica, Tehnologia produselor cosmetice, volumul I. Substante active si aditivi, editura Kolos, 2003
2. Applegate L.A., Frenk E. (1995) Cellular defense mechanisms of the skin against oxidant stress and in particular UVA radiation. *Eur.J.Dermatol.* **5**: 97-103.
3. Balasubramanian D. (2000) Ultraviolet radiation and cataract. *J.Ocul.Pharmacol.Ther.* **16**: 285-297.
4. Chapple I.L.C. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J.Clin.Paradontol.* **24**: 287-296.
5. Cole C. (2001) Sunscreen protection in the ultraviolet A region: how to measure the effectiveness. *Photodermatol.Photoimmunol.Photomed.* **17**: 2-10.
6. Cunningham M.L., Johnson J.S., Giovanazzi S.M., Peak M.J. (1985) Photosensitized production of superoxide anion by monochromatic (290-405 nm) ultraviolet irradiation of NADH and NADPH coenzymes. *Photochem.Photobiol.* **42**: 125-128.
7. Dean R.T., Fu S., Stocker R., Davies M.J. (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem.J.* **324**: 1-18.
8. de Gruijl F.R. (2000) Photocarcinogenesis: UVA vs UVB. *Methods.Enzymol.* **319**: 359-66.
9. Dovrat A., Weinreb O. (1999) Effects of UV-A radiation on lens epithelial NaK-ATPase in organ culture. *Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.* **40**: 1616-1620.
10. Dudek E.J., Peak J.G., Roth R.M., Peak M.J. (1993) Isolation of V79 fibroblast cell lines containing elevated metallothionein levels that have increased resistance to the cytotoxic effects of ultraviolet-A radiation. *Photochem.Photobiol.* **58**: 836-840.
11. Dumitru I.F., Nechifor M.T. (1994) Decrease in yeast glucose-6-phosphate dehydrogenase activity due to oxygen free radicals. *Int.J.Biochem.* **26**: 229-233.
12. Finley E.L., Busman M., Dillon J., Crouch R.K., Schey K.L. (1997) Identification of photooxidation sites in bovine  $\alpha$ -crystallin. *Photochem.Photobiol.* **66**: 635-641.
13. Forestier S., Mascotto R. (1999) Sun and UVA. *SÓFW-Journal* **8**: 2-6.
14. Gurny Teubner, Dermal and transdermal drug delivery, PAPERBACK, Band 31
15. Halliday G.M., Bestak R., Yuen K.S., Cavanagh L.L., Barnetson R.S. (1998) UVA-induced immunosuppression. *Mutat.Res.* **422**: 139-45.
16. Hasegawa T., Kaneko F., Niwa Y. (1992) Changes in lipid peroxide levels and activity of reactive oxygen scavenging enzymes in skin, serum and liver following UVB irradiation in mice. *Life Sci.* **50**: 1893-1903.
17. Huda A. (2000) UVA, UVB, and UVC and their possible effects. *Health Phys.* **78** (5 Suppl): S75.
18. Kielbassa C., Roza L., Epe B. (1997) Wavelength dependence of oxidative DNA damage induced by UV and visible light. *Carcinogenesis* **18**: 811-816.
19. Kohen E., Santus R., Hirschberg J.G. (1995) Biological effects of solar ultraviolet radiation. In: Photobiology, Academic Press, pp.275-302.
20. Kuluncsics Z., Perdiz D., Brulay E., Muel B., Sage E. (1999) Wavelength dependence of ultraviolet-induced DNA damage distribution: involvement of direct or indirect mechanisms and possible artefacts. *J.Photochem.Photobiol.* **49**: 71-80.
21. Kuusilehto A. (2000) Transmission of UVA radiation through epithelium of oral mucosa and skin in rat and man. *Photodermatol.Photoimmunol.Photomed.* **16**: 189-191.

22. Leszczynski D., Fagerholm S., Leszczynski K. (1996) The effects of the broadband UVA radiation on myeloid leukemia cells: The possible role of protein kinase C in mediation of UVA-induced effects. *Photochem.Photobiol.* **64**: 936-942.
23. Maines M.D., Traskshel G.M., Kutty R.K. (1986) Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal heme oxygenase. Only one molecular species of the enzyme is inducible. *J.Biol.Chem.* **261**: 411-419.
24. Morel Y., Barouki R. (1999) Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem.J.* **342**: 481-496.
25. Morliere P., Moysan A., Tirache I. (1995) Action spectrum for UV-induced lipid peroxidation in cultured human skin fibroblasts. *Free Rad.Biol.Med.* **19**: 365-371.
26. Nechifor M.T., Neagu M., Manda G., Gaghes M. (1999) Changes in albumin fraction after *in vitro* UVA irradiation of human plasma. *J.Med.Biochem.* **3**: 283-287.
27. Peak M.J., Peak J.G., Carnes B.A. (1987) Induction of direct and indirect single-strand breaks in human cell DNA by far- and near-ultraviolet radiations: Action spectrum and mechanisms. *Photochem.Photobiol.* **45**: 381-387.
28. Peak J.G., Pilas B., Dudek E.J., Peak M.J. (1991) DNA breaks caused by monochromatic 365 nm ultraviolet-A-radiation and their repair in human epithelioid and xeroderma pigmentosum cell. *Photochem.Photobiol.* **54**: 197-203.
29. Robert M., Bissonauth V., Ross G., Rouabhia M. (1999) Harmful effects of UVA on the structure and barrier function of engineered human cutaneous tissues. *Int.J.Radiat.Biol.* **75**: 317-26.
30. Shore R.E. (2001) Radiation-induced skin cancer in humans. *Med.Pediatr.Oncol.* **36**: 549-554.
31. Sies H. (1991) Oxidative stress: Introduction. In: *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*, Academic Press, San Diego, pp.XV-XXII.
32. Somosy Z. (2000) Radiation response of cell organelles. *Micron* **31**: 165-181.
33. Strydom A., Robert C., Sarasin A. (1997) Deleterious effects of ultraviolet A radiation in human cells. *Mutation Res.* **383**: 1-8.
34. Stoker R. (1990) Induction of heme oxygenase as a defence against oxidative stress. *Free Rad.Res.Comms.* **9**: 101-112.
35. Stoker R., Lai A., Peterhans E., Ames B.N. (1989) Antioxidant activities of bilirubin and biliverdin. In: *Medical, Biochemical, and Chemical Aspects of Free Radicals*, Elsevier, Amsterdam, pp.465-468.
36. Tyrrell R. (1996) Activation of mammalian gene expression by the UV component of sunlight – from models to reality. *BioEssays* **18**: 139-148.
37. Tyrrell R. (1999) Redox regulation and oxidant activation of heme oxygenase-1. *Free Rad.Res.* **31**: 335-40.
38. van der Leun J.C. (1996) UV radiation from sunlight: summary, conclusions and recommendations. *Photochem.Photobiol.* **35**: 237-244.
39. Wang S.Q., Setlow R., Berwick M., Polsky D., Marghoob A.A., Kopf A.W., Bart R.S. (2001) Ultraviolet A and melanoma: a review. *J.Am.Acad.Dermatol.* **44**: 837-846.
40. Zigman S., McDaniel T., Schultz J.B., Reddan J., Meydani M. (1995) Damage to cultured lens epithelial cells of squirrels and rabbit by UV-A (99.9%) plus UV-B (0.1%) radiation and alpha tocopherol protection. *Mol.Cell Biochem.* **143**: 35-46.
41. Zigman S. (2000) Lens UVA photobiology. *J.Ocul.Pharmacol.Ther.* **16**: 161-165.

42. Kähäri V-M, Saarialho-Kere U. (1997) Matrix metalloproteinases in skin. *Exp Dermatol* 6:199-213.
43. Faten M. Ibrahim, El Habbasha, S.F., Chemical Composition, Medicinal Impacts and Cultivation of Camelina (*Camelina sativa*): Review, *IJPRIF*, Vol.8, No.10, pp 114-122, 2015
44. Ion Toncea, Dan Necseriu, Tudor Prisecaru, Liliana-Nadia Balint, Madalina-Irina Ghilvacs, Mihaela Popa - The seed's and oil composition of Camelina – first romanian cultivar of camelina (*Camelina sativa*, L. Crantz), *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 18, No. 5, 2013
45. McCusker MM, Grant-Kels JM. - Healing fats of the skin: the structural and immunologic roles of the omega-6 and omega-3 fatty acids, *Clin Dermatol*. 2010 Jul-Aug;28(4):440-51
46. Rui Xu - Important bioactive properties of omega-3 fatty acids, *Italian Journal Of Food Science*, Vol 27 No 2 (2015)
47. Márquez-Balbás G, Sánchez-Regaña M, Millet U - Study on the use of omega-3 fatty acids as a therapeutic supplement in treatment of psoriasis, *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* » Volume 4, Pages 73—77
48. Adriano Menis Ferreira, Bruna Machado Vieira de Souza, Marcelo Alessandro Rigotti, Marisa Rolan Dias Loureiro - The use of fatty acids in wound care: an integrative review of the Brazilian literature, *Rev. esc. enferm. USP* vol.46 no.3 , june 2012
49. Kim HH, Cho S, Lee S, Kim KH, Cho KH, Eun HC, Chung JH. - Photoprotective and anti-skin-aging effects of eicosapentaenoic acid in human skin in vivo, *J Lipid Res*. 2006 May;47(5):921-30. Epub 2006 Feb 7.
50. Puglia C, Tropea S, Rizza L, Santagati NA, Bonina F. - In vitro percutaneous absorption studies and in vivo evaluation of anti-inflammatory activity of essential fatty acids (EFA) from fish oil extracts, *Int J Pharm*. 2005 Aug 11;299(1-2):41-8.
51. Barel A.O., Paye M., Maibach H.I. - *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, Marcel Dekker, Inc, 2014
52. Keen MA, Hassan I. - Vitamin E in dermatology, *Indian Dermatol Online J.*, 2016 Jul-Aug;7(4):311-5