



Jeunes pousses / *Vegetable sprouts*

Les jeunes pousses : une source d'intérêt pour le soin de la peau

Les jeunes pousses végétales sont très riches en nutriments ayant des vertus bénéfiques pour la santé. Après sélection de végétaux, des actifs cosmétiques ont été développés à partir des jeunes pousses de ces plantes pour évaluer leur activité ainsi que leurs effets sur la peau.

Le règne végétal est un réservoir de substances biologiquement actives. Les métabolites secondaires dont le rôle est de protéger les plantes contre les maladies, les agressions, les pathogènes, la sécheresse, la salinité, les UV et polluants sont particulièrement intéressants. Parmi les métabolites secondaires, on trouve des flavonoïdes, des saponines,

des monoterpènes, des phytostérols et des isothiocyanates. Un grand nombre de ces composés phytochimiques sont connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Les composés phytochimiques des grappes de raisin rouge, les procyanidines antioxydants qui préviennent les maladies cardiovasculaires, en sont un bon exemple ⁽¹⁾.

► Le processus de germination

Les jeunes pousses qui se développent à partir des graines en germination constituent le matériel végétal le plus riche en nutriments ayant des vertus bénéfiques pour la santé. Les graines contiennent l'embryon et stockent les réserves nutritives. Lorsque les conditions sont favorables, les graines

Vegetable sprouts: a potent source for cosmetic actives

Vegetable sprouts are extremely rich in healthy nutrients. After plant selection, cosmetic active ingredients were developed from the sprouts of these plants in order to evaluate their activity and effects on the skin.

The plant kingdom is a reservoir of biologically active chemicals. Very interesting are the so called "secondary metabolites" whose role is to protect the plants from disease, damage, pathogens, drought, salinity, extreme ultraviolet and pollutants. Secondary metabolites include substance families like flavonoids, saponins, monoterpenes, phytosterols and isothiocyanates. Many of these phytochemicals are known to exert beneficial effects on human health. Well known examples are the healthy

phytochemicals of red wine grapes, the antioxidant procyanidins that help against cardiovascular diseases ⁽¹⁾.

► The germination process

Sprouts are the young shoots that develop from germinating seeds. They are known as the plant material with the highest level of healthy nutrients. Plant seeds contain the embryo and store food reserves. When under favorable conditions, the seeds begin to germinate, the food reserves are

mobilized. The fats are transformed into free fatty acids, starch into maltose and proteins into free amino acids. At this stage, some other very important nutrients start coming up in the growing seed such as vitamins, enzymes and secondary metabolites. Sprouts that are a few days old have the highest concentration of healthy nutrients per calorie of any food ⁽²⁾. Because the shoots of a plant are especially vulnerable, secondary metabolites are very abundant at this stage. The goal of the work described



Figure 1 :
JEUNES POUSSÉS DE TOURNESOL
QUI ONT GERMÉ 10 JOURS
DANS UN SYSTÈME DE CULTURE
HYDROPONIQUE.
*SHOOTS OF SUNFLOWERS THAT GERMINATED 10
DAYS IN A HYDROPONIC CULTIVATION SYSTEM.*

commencent à germer et les réserves nutritives sont mobilisées. Les matières grasses sont transformées en acides gras libres, l'amidon en maltose et les protéines en acides aminés libres. A ce stade, d'autres nutriments importants apparaissent dans les graines en germination tels que les

vitamines, les enzymes et les métabolites secondaires. Les pousses, jeunes de quelques jours, représentent les aliments les plus riches en nutriments ayant des vertus bénéfiques pour la santé, par calorie⁽²⁾. Cette concentration importante en métabolites secondaires dans les jeunes pousses compense, en quelque sorte, leur extrême vulnérabilité. L'objectif de l'étude décrite dans cet article était d'identifier l'intérêt pour le soin de la peau de jeunes pousses sélectionnées.

Les jeunes pousses peuvent être produites aisément par culture hydroponique. Les graines sont tout d'abord imprégnées d'eau puis laissées au repos pendant deux jours pour initier leur germination. Les très jeunes pousses sont ensuite transférées dans des conteneurs rotatifs qui vont permettre un drainage et une aération adéquats. Le système de rotation permet de prévenir le développement de microclimats qui favoriseraient la contamination bactériologique et fongique. Après quelques jours d'incubation dans ces conteneurs, les jeunes pousses sont récoltées (Figure 1). Elles sont produites dans l'obscurité afin d'inhiber la production des pigments de chlorophylle.

► Contrôler les réactions d'oxydo-réduction et radicalaires

La publicité récente concernant les jeunes pousses résulte notamment des travaux de recherche de l'Université Johns Hopkins concernant les isothiocyanates du brocoli. Ces travaux ont montré que la concentration en isothiocyanates, qui ont des vertus anticancer, était 20 à 50 fois plus importante dans les jeunes pousses âgées de 3 jours que dans le brocoli mature⁽³⁾. Les isothiocyanates sont des métabolites secondaires composés de soufre que l'on trouve dans les plantes sous forme de dérivés glucosés appelés glucosinolates (Figure 2). Lorsque les végétaux sont mâchés, la membrane des cellules végétales se rompt, ce qui conduit à la libération de l'enzyme myrosinase qui va hydrolyser les glucosinolates en isothiocyanates. Les glucosinolates sont typiques des végétaux de la famille des Brassicacées (chou, brocoli, chou-fleur, chou frisé, colza, moutarde, radis, raifort, cresson des eaux et cresson de jardin). Le sulforaphane est l'isothiocyanate caractéristique du brocoli⁽³⁾. Il est responsable de

in this article was to find sprouts of selected species with specific benefits when used as a basis for cosmetic ingredients.

Sprouts or shoots can be easily produced by hydroponic cultivation. The seeds are first soaked in water and left 2 days to start sprouting. The very small shoots are then transferred to rotating containers that provide drainage and aeration. Rotation is impor-

tant to prevent the development of micro climates that favor bacterial and fungal contamination. After a couple of days' incubation in the containers, the shoots are harvested (Figure 1). Shoots are produced in the dark in order to inhibit the production of chlorophyll pigments.

► Garden cress sprouts for redox and radical control

The publicity on sprouts was especially driven by the research on the isothiocyanates of broccoli done at the Johns Hopkins University. The concentration of the anti-cancer isothiocyanate active was found to be 20 to 50 times higher in 3-day-old sprouts than in mature broccoli⁽³⁾. Isothiocyanates are sulfur-containing secondary metabolites that are present in the living plant as glucose-derivatives, called glucosinolates (Figure 2). When the vegetables are chewed, the plant cells are broken and the enzyme myrosinase is liberated that hydrolyses the glucosinolates into isothio-

cyanates. Glucosinolates are typical for vegetables of the Brassicaceae family (cabbage, broccoli, cauliflower, kale, rape-seed, mustard, radishes, horse radish, water and garden cress). Sulforaphane is the best characterized isothiocyanate in broccoli⁽³⁾. It gives it a spicy aroma and a refreshing, peppery-pungent taste.

Sulforaphane is a well described, natural activator of the transcription factor NF-E2-related factor 2 (Nrf2), that plays an essential role in the cellular defense against highly reactive chemicals⁽⁴⁾. Free radicals generated by oxidative stress and electrophilic, toxic compounds represent the main threat at the cellular level. Our cells respond to these toxic chemicals by increasing the synthesis of cytoprotective proteins. These are detoxifying proteins and enzymes that rebalance the redox status by neutralizing electrophiles and replenishing used cellular antioxidants such as glutathione. They are characterized by a specific gene sequence, called antioxidant response element (ARE) and their

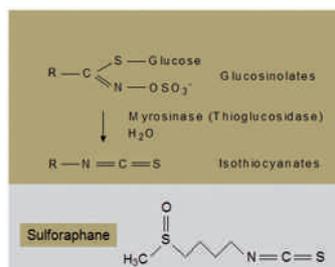


Figure 2 :
FORMATION DES ISOTHIOCYANATES
ET FORMULE CHIMIQUE DU
SULFORAPHANE.
*FORMATION OF ISOTHIOCYANATES AND
CHEMICAL FORMULA OF SULFORAPHANE.*

l'arôme épicé du brocoli et de son goût rafraîchissant, poivré et piquant.

Il a été démontré que le sulforaphane était un activateur naturel du facteur de transcription Nrf2 (NF-E2-related factor 2) qui joue un rôle essentiel dans la défense cellulaire contre les produits chimiques hautement réactifs ⁽⁴⁾. Les radicaux libres générés par les stress oxydatifs et les composés toxiques électrophiles représentent la principale menace au niveau cellulaire. Nos cellules répondent à ces produits chimiques toxiques en augmentant la synthèse de protéines cytoprotectrices, un groupe de protéines détoxifiantes et enzymes qui rééquilibrent le statut redox en neutralisant les électrophiles et en régénérant les antioxydants cellulaires utilisés tels que le glutathion. Elles sont caractérisées par une séquence de gène spécifique appelée élément de la réponse antioxydante (ARE) et leur expression est régulée par le facteur de transcription Nrf2 qui se fixe au site ARE dans la séquence promotrice régulatrice ⁽⁵⁾. Des publications scientifiques récentes ont également montré le rôle clé de Nrf2 dans la réponse de la peau aux irradiations UV. En effet, les UVA,

expression is regulated by the transcription factor Nrf2 that binds to the ARE site in the promoter regulatory sequence ⁽⁵⁾. Recent scientific publications also demonstrate for Nrf2 a key role in the UV response of the skin. UVA, that is known to generate a significant oxidative stress, was found to induce the expression of the protecting, ARE-containing enzyme heme oxygenase 1 (HO-1) ⁽⁶⁾.

► Evaluation of the activity of cress sprouts

Organic garden cress sprouts were produced and encapsulated into liposomes for a better skin uptake. The activity of the resulting active ingredient called Detoxophane (INCI: *Lepidium Sativum* Sprout Extract (and) Lecithin (and) Glycerin (and) Phenoxyethanol (and) Aqua/Water) was evaluated. Its capacity to modulate the expression of cytoprotective enzymes was analyzed *in vitro* using normal human keratinocytes and quantitative RT-PCR (Figure 3). The keratinocytes

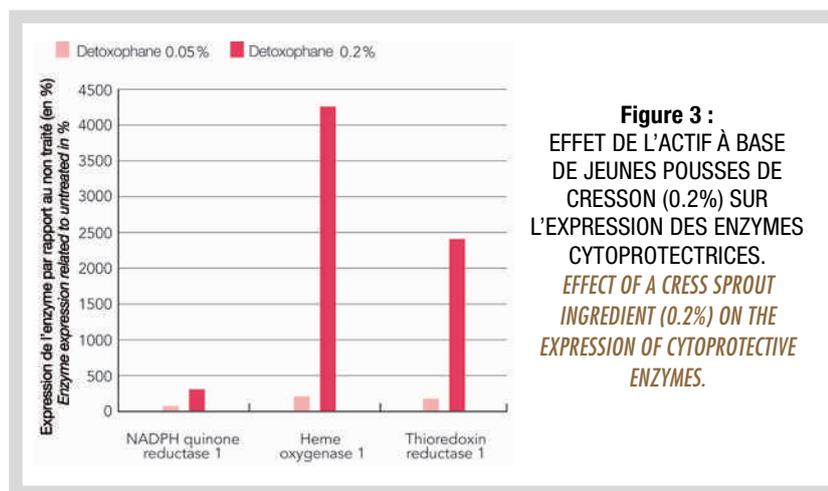


Figure 3 :
EFFET DE L'ACTIF À BASE DE JEUNES POUSSÉS DE CRESSON (0.2%) SUR L'EXPRESSION DES ENZYMES CYTOPROTECTRICES.
EFFECT OF A CRESS SPROUT INGREDIENT (0.2%) ON THE EXPRESSION OF CYTOPROTECTIVE ENZYMES.

qui génèrent des stress oxydatifs significatifs, induisent l'expression de l'enzyme protectrice hème oxygénase 1 (HO-1) qui contient la séquence ARE ⁽⁶⁾.

► Evaluation de l'activité des jeunes pousses de cresson

Des jeunes pousses de cresson de jardin bio ont été produites puis encapsulées dans des liposomes pour favoriser leur pénétration dans la peau. L'activité de l'actif

were grown in standard growth medium to 80 % confluence. Then the cells were incubated for 24 hours with 0.05 or 0.2 % Detoxophane. After incubation, the cells were harvested and total RNA was extracted. The PCR reactions were performed with the LightCycler® system (Roche Molecular Systems Inc.). NADPH:quinone reductase 1 (NQO1) is a major anti-carcinogenic enzyme with a principal role in transforming quinones into stable hydroquinones. Heme oxygenase 1 (HO-1) is induced after exposure to oxidative stress, such as UV irradiation or hyperoxia, indicating its role in cellular defense. Thioredoxin reductase 1 (TrxR1) works together with NADPH to control the redox balance of the cell. Compared to the untreated control, the antioxidant enzyme NQO1 was moderately stimulated by Detoxophane (114% increased). HO-1 and TrxR1 were both stimulated strongly, by 42 fold and 23 fold respectively. Glutathione peroxidase (GPX1) that has a major role in the reduction of lipid peroxides

final appelé Detoxophane (INCI : *Lepidium Sativum* Sprout Extract (and) Lecithin (and) Glycerin (and) Phenoxyethanol (and) Aqua/Water) a été évalué. Sa capacité à moduler l'expression des enzymes cytoprotectrices a été analysée *in vitro* sur des kératinocytes humains normaux grâce à la technique de RT-PCR quantitative (Figure 3). Les kératinocytes ont été cultivés dans un milieu de croissance standard jusqu'à 80 % de confluence. Les cellules ont ensuite été incubées pendant 24 heures avec 0,05

and of free hydrogen peroxide, did not respond to Detoxophane in this study.

► Increase lip volume

Yellow mustard (*Sinapis alba*) is another member of the Brassicaceae fa-

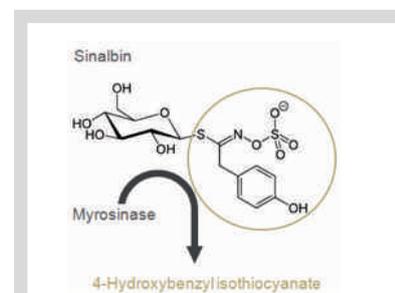


Figure 4 :
TRANSFORMATION DE LA SINALBINE PAR L'ENZYME MYROSINASE EN 4-HYDROXYBENZYL ISOTHIOCYANATE.
TRANSFORMATION OF SINALBIN BY THE MYROSINASE ENZYME INTO 4-HYDROXYBENZYL ISOTHIOCYANATE.

ou 0,2 % de Detoxophane. Après incubation, les cellules ont été récoltées et l'ARN total a été extrait. Les réactions PCR ont été réalisées avec le système LightCycler® (Roche Molecular Systems Inc.).

NADPH:quinone reductase 1 (NQO1) est une enzyme anti-carcinogène essentielle dont le rôle principal est de transformer les quinones en hydroquinones stables. L'hème oxygénase 1 (HO-1) est induite par l'exposition aux stress oxydatifs tels que l'irradiation UV ou l'hyperoxie, ce qui montre son implication dans la défense cellulaire. La thiorédoxine réductase 1 (TrxR1) agit de concert avec NADPH pour contrôler l'équilibre redox de la cellule. Par rapport au contrôle, l'enzyme antioxydante NQO1 a été modérément stimulée par Detoxophane (augmentation de 114 %) tandis que les enzymes HO-1 et TrxR1 ont été toutes les deux fortement stimulées (multiplication par 42 et 23 respectivement). La glutathion peroxydase (GPX1) qui joue un rôle essentiel dans la réduction des peroxydes lipidiques et des peroxydes d'hydrogène libres n'a pas réagi à Detoxophane dans cette étude.

► Augmenter le volume des lèvres

La moutarde jaune (*Sinapis alba*) appartient également à la famille des Brassicacées. Son métabolite secondaire caractéristique est la sinalbine, un glucosinolate qui est responsable du goût piquant spécifique de la moutarde (Figure 4). Lorsqu'on les applique sur la peau ou les muqueuses, les isothiocyanates de la moutarde provoquent une dilatation des capillaires et une augmentation du flux sanguin conduisant à une rougeur ainsi qu'à une sensation de chaleur ⁽⁷⁾.

Des jeunes pousses de moutarde jaune bio ont été produites puis extraites dans l'eau afin d'offrir un stimulateur du flux sanguin à la fois naturel et sûr. L'actif final LIPerfection (INCI : *Brassica alba* Sprout Extract (and) Sodium Benzoate (and) Aqua/Water) a été testé sur 18 femmes âgées de 18 à 52 ans afin d'évaluer son effet sur le volume des lèvres de ces dernières. Les volontaires ont tout d'abord appliqué deux fois par jour pendant deux semaines une émulsion placebo sur leurs lèvres. Puis, après une semaine au cours de laquelle elles n'ont appliqué aucun produit, elles ont appliqué une émulsion contenant 2 %

de LIPerfection pendant deux semaines. Le volume des lèvres a été analysé avec l'appareil Primos Pico® (Phaseshift Rapid In vivo Measurement of Skin - GFM - Germany) et l'hydratation des lèvres, avec le Cornéomètre® CM 825 (Courage & Khazaka, Germany). Les résultats ont montré que, par rapport au placebo, LIPerfection augmentait le volume des lèvres de 50,1 mm³ (Figure 5) et induisait de façon immédiate une augmentation de l'hydratation des lèvres de 10 % (résultats non présentés).

► Booster l'énergie cellulaire cutanée

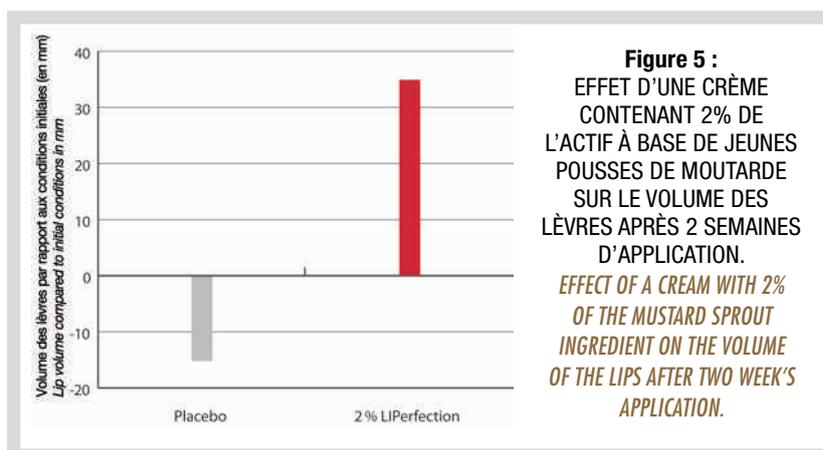
Le tournesol se tourne vers le soleil et symbolise le pouvoir, la chaleur et la nutrition autrement dit, les attributs du soleil. Des jeunes pousses de tournesol bio ont été produites puis extraites dans l'eau. La capacité de l'actif final Sunflower Shoot Active (INCI : *Helianthus annuus* (Sunflower) Sprout Extract (and) Sodium Benzoate (and) Aqua/Water) à stimuler l'énergie cellulaire, a été évaluée. Au niveau cellulaire, l'énergie est produite dans des organites spécialisés appelés mitochon-

mily. Its typical secondary plant metabolite is the glucosinolate sinalbin which is responsible for the typical pungent taste of mustard (Figure 4). When applied to the skin or mucous membranes, the mustard isothiocyanate causes a dilation of the capillaries and an increase in blood circulation inducing redness and a feeling of warmth ⁽⁷⁾.

Organic young yellow mustard sprouts were produced and extracted in wa-

ter in order to offer a natural, safe blood flow enhancer. The resulting active ingredient, LIPerfection (INCI: Brassica alba Sprout Extract (and) Sodium Benzoate (and) Aqua/Water) was tested for stimulation of lip volume on 18 women between 18 and 52 years old. First, the subjects applied twice daily over two weeks the placebo cream on their lips. After a wash out period of 1 week, the same subjects applied the 2% LIPerfection

cream over two weeks. The volume of the lips was analyzed with the Primos Pico® device (Phaseshift Rapid In vivo Measurement of Skin - GFM - Germany) and moisture of the lips with the Corneometer® CM 825 (Courage & Khazaka, Germany). Compared to placebo, LIPerfection was found to increase the lip volume by 50.1 mm³ (Figure 5) and to induce an immediate hydration increase of 10% (not shown).



► Boost the skin's cellular energy

Sunflowers turn towards the sun and symbolize power, warmth and nourishment, the attributes of the sun. Organic young sunflower sprouts were produced and extracted in water. The resulting active ingredient, Sunflower Shoot Active (INCI: Helianthus annuus (Sunflower) Sprout Extract (and) Sodium Benzoate (and) Aqua/Water) was tested for stimulation of cellular energy. At a cellular level, energy is produced in specia-

dries. Là, le glucose et les autres nutriments sont oxydés en dioxyde de carbone et en eau. L'énergie libérée est stockée sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Dans les cellules des mammifères, l'ADN est présent dans le noyau mais également dans les mitochondries. La « théorie du vieillissement mitochondrial » repose sur le fait que la production d'ATP génère, tel un effet secondaire, des espèces oxygénées réactives (EOR) au niveau de la chaîne de transport d'électrons. Avec le temps, ces EOR endommagent les constituants de cette chaîne et de l'ADN mitochondrial. Ainsi, davantage d'EOR sont générés, ce qui conduit à un cercle vicieux aboutissant à une production d'énergie limitée et donc à un fonctionnement réduit des cellules et des tissus autrement dit, au vieillissement. L'effet de Sunflower Shoot Active sur la production d'énergie a été évalué sur des épidermes reconstruits à partir de kératinocytes humains normaux (Laboratoires SkinEthic). Les modèles d'épidermes reconstruits ont été cultivés dans un milieu de culture contenant ou pas 2 % de Sunflower Shoot Active. Après 4 semaines de culture, la concentration en ATP dans ces modèles d'épiderme a été détermi-

lized organelles, called mitochondria. There, glucose and other food molecules are oxidized to carbon dioxide and water. The energy released is stored in the form of adenosine triphosphate (ATP). In mammalian cells, the DNA is present in the nucleus but also in mitochondria. The "mitochondrial theory of aging" states that during ATP production, in the electron transfer chain reaction, reactive oxygen species (ROS) are generated as negative side effects and that these ROS over time damage the components of this chain and the mitochondrial DNA. As consequence, even more ROS are then generated, ending in a vicious cycle that leads to a constricted energy production. The result of limited ATP is a reduced function of cells and tissues which is aging.

The effect of Sunflower Shoot Active on energy production was tested on reconstructed epidermis from normal human keratinocytes (SkinEthic laboratories). The reconstructed epidermis models were cultured in medium (control)

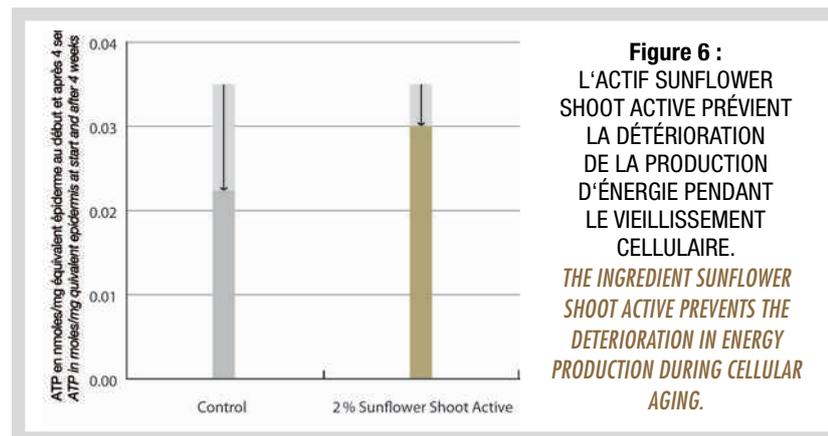


Figure 6 :
L'ACTIF SUNFLOWER SHOOT ACTIVE PRÉVIENT LA DÉTÉRIORATION DE LA PRODUCTION D'ÉNERGIE PENDANT LE VIEILLISSEMENT CELLULAIRE.
THE INGREDIENT SUNFLOWER SHOOT ACTIVE PREVENTS THE DETERIORATION IN ENERGY PRODUCTION DURING CELLULAR AGING.

née (Kit Biovision®). Alors que la production d'ATP s'est réduite de 36 % dans la culture contrôlée par rapport à celle des épidermes fraîchement reconstruits, elle a diminué de seulement 15,4 % pour les épidermes cultivés en présence de Sunflower Shoot Active (Figure 6). Grâce au modèle d'épiderme reconstruit, nous avons pu montrer une réduction de la production d'énergie au cours du vieillissement de ce modèle. Lorsque l'épiderme reconstruit est cultivé en présence de l'actif Sunflower Shoot Active, la baisse de production d'énergie est atténuée de façon importante.

or in medium with 2% Sunflower Shoot Active. After 4 weeks' culture, the ATP concentration in the epidermis models was analyzed (Biovision® kit). Whereas the loss in the control culture accounted to 36% compared to freshly reconstructed epidermis, the reduction in ATP in the epidermis cultured in the Sunflower Shoot Active medium was significantly lower, namely only 15.4% (Figure 6). Using a reconstructed epidermis model we could demonstrate a decline in energy production with advancing age of the model. When the reconstructed epidermis was cultured in the presence of the Sunflower Shoot Active, deterioration in energy production could be reduced.

► Conclusion

Vegetable sprouts are extremely rich in healthy nutrients. We showed that some of them were of great interest for skincare. Indeed, the active ingredient we developed from cress sprouts was able to fight oxidation and free radicals, the second one

► Conclusion

Les jeunes pousses végétales sont très riches en nutriments ayant des vertus bénéfiques pour la santé. Nous avons montré que certaines d'entre elles présentaient un intérêt pour le soin de la peau. En effet, l'actif que nous avons développé à partir de jeunes pousses de cresson permet de lutter contre l'oxydation et les radicaux libres, l'actif issu de jeunes pousses de tournesol stimule l'énergie cellulaire et enfin, l'actif obtenu à partir de jeunes pousses de moutarde s'est avéré capable d'augmenter le volume des lèvres. ■

based on sunflower sprouts stimulated cellular energy and finally, the third one based on mustard sprouts could increase lip volume. ■

Bibliography

1. H. Schroeter, C. Heiss et al., Mol Aspects Med, 31, pp. 546-557 (2010).
2. J.K. Chavan, S.S. Kadam, Crit Rev Food Sci Nutr, 28, pp. 401-437 (1989)
3. J.W. Fahey, Y. Zhang et al., Proc Natl Acad Sci USA, 94, pp. 10367-10372 (1997).
4. P. Nioi, M. McMahon et al., Biochem J, 374, pp. 337-348 (2003).
5. T. Nguyen, C.S. Yang et al., Free Radic Biol Med, 37, 433-441 (2004).
6. J.L. Zhong, G.P. Edwards et al., Photochem Photobiol Sci, 9, 18-24 (2010).
7. K.C. Albin, M.I. Carstens et al., Chem Senses, 33, 3-15 (2008).
8. Y. Zhang, K.L. Wade et al., Anal Biochem, 239, 160-167 (1996).

Daniel Schmid, Riikka Sacher, Esther Belser, Fred Züllli et / and Elodie Mauger
MIBELLE BIOCHEMISTRY, Switzerland