

УДК 615.011+615.26+615.014.2+615.331

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.165>М. І. ФЕДОРОВСЬКА¹, Н. П. ПОЛОВКО², О. П. СТРИЛЕЦЬ²¹Івано-Франківський національний медичний університет²Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДЕРМАТОКОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ З РОСЛИННИМИ СУБСТАНЦІЯМИ НА БІОЛОГІЧНІЙ МОДЕЛІ *PARAMECIUM CAUDATUM*

Актуальність. Перспективним напрямком у проведенні доклінічних досліджень лікарських засобів є використання біологічної моделі інфузорій *Paramecium caudatum*.

Мета дослідження. Вивчення антиоксидантних властивостей та можливого токсичного впливу дерматокосметичних засобів (ДКЗ) з рослинними субстанціями на моделі *Paramecium caudatum*.

Матеріали та методи. Для вивчення антиоксидантної дії розроблених ДКЗ оцінювали їх вплив на тривалість періоду активності *Paramecium caudatum* в середовищі з додаванням токсичних речовин (1 % розчин перексиду водню, 14 % етанол). Потенційну токсичність вивчали в хронічному досліді за реакціями росту, розмноження та функціонального стану парамецій у поживному середовищі з додаванням досліджуваних ДКЗ.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що досліджувані ДКЗ в порівнянні з контрольними пробами (1 % розчин перексиду водню і 14 % етанол) істотно подовжували період збереження рухової активності *Paramecium caudatum* в присутності клітинних отрут. Результати хронічного досліді показали, що під впливом ДКЗ помітно підвищувалась рухова активність і частота розмноження клітин парамецій, оскільки через 3 доби їх кількість перевищувала контроль у 3-4 рази.

Висновки. Отримані результати вивчення антиоксидантної дії та токсичності в гострому і хронічному досліді на біологічній моделі *Paramecium caudatum* підтверджують, що на клітинному рівні розроблені ДКЗ володіють антиоксидантною (протективною) дією і є нетоксичними для біоорганічної системи.

Ключові слова: алопеція; дерматокосметичні засоби; антиоксидантна дія; токсичність; *Paramecium caudatum*

M. Fedorovska, N. Polovko, O. Strilets

Study of antioxidant properties of dermatocosmetic remedies with plant substances using *Paramecium caudatum* biological model

Topicality. A promising direction in conducting preclinical drug research is the application of the biological model of *Paramecium caudatum*.

Aim. To study antioxidant properties and possible toxic effects of dermatocosmetic remedies (DKR) with plant substances applying the model of *Paramecium caudatum*.

Materials and methods. In order to study the antioxidant action of developed DKR it was evaluated their influence on the activity duration of *Paramecium caudatum* in the medium with toxic substances (1 % solution of hydrogen peroxide, 14 % ethanol). Potential toxicity was examined in the chronic trials considering growth and reproductive reactions and functional status of paramecia in the nutrient medium with the DKR added.

Results and discussion. It was determined that investigated DKR in comparison with control samples (1 % solution of hydrogen peroxide and 14 % ethanol) substantially prolonged the *Paramecium caudatum* activity period in the presence of cellular toxins. The results of chronic study showed that under the DKR influence the movement activity and cell multiplication frequency of Paramecia were significantly increased since in 3 days research, their numbers exceeded the control by 3-4 times.

Conclusions. The obtained results of the antioxidant activity and toxicity in the acute and chronic trials using *Paramecium caudatum* biological model confirm that at cellular level the developed DKR cause antioxidant (protective) effect and are non-toxic to the bioorganic system.

Key words: alopecia; dermatocosmetic remedies; antioxidant effect; toxicity; *Paramecium caudatum*

М. И. Федоровская, Н. П. Половко, О. П. Стрилец

Изучение антиоксидантных свойств дерматокосметических средств с растительными субстанциями на биологической модели *Paramecium caudatum*

Актуальность. Перспективным направлением в проведении доклинических исследований лекарственных средств является использование биологической модели инфузорий *Paramecium caudatum*.

Цель исследования. Изучение антиоксидантных свойств и возможного токсического воздействия дерматокосметических средств (ДКС) с растительными субстанциями на модели *Paramecium caudatum*.

Материалы и методы. Для изучения антиоксидантного действия разработанных ДКС оценивали их влияние на продолжительность периода активности *Paramecium caudatum* в среде с добавлением токсических веществ (1 % раствор перекиси водорода, 14 % этанол). Потенциальную токсичность изучали в хроническом опыте за реакциями роста, размножения и функционального состояния парамеций в питательной среде с добавлением исследуемых ДКС.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что исследуемые ДКС по сравнению с контрольными пробами (1 % раствор перекиси водорода и 14 % этанол) существенно удлиняли период сохранения двигательной активности *Paramecium caudatum* в присутствии клеточных ядов. Результаты хронического опыта показали, что под влиянием ДКС заметно повышалась двигательная активность и частота деления клеток парамеций, поскольку через 3-е суток их количество превышало контроль в 3-4 раза.

Выводы. Полученные результаты изучения антиоксидантного действия и токсичности в остром и хроническом опыте на биологической модели *Paramecium caudatum* подтверждают, что на клеточном уровне разработанные ДКС обладают антиоксидантным (протективным) действием и являются нетоксичными для биологической системы.

Ключевые слова: алопеция; дерматокосметические средства; антиоксидантное действие; токсичность, *Paramecium caudatum*

ВСТУП

Алопеция є поширеним дерматологічним захворюванням, яке в залежності від етіопатогенезу поділяється на різні види (андрогенну, телогенову, анагенову, гніздову та ін.) та вимагає специфічного підходу до діагностики, профілактики та лікування [1]. Проте спільним у фармакотерапії різних алопецій є стимулювання периферичного кровообігу у шкірі голови з метою насичення тканин волосяного фолікулу (ВФ) поживними речовинами [2, 3]. До діючих субстанцій рослинного походження, що посилюють місцевий кровообіг, належать неспецифічні подразнювачі засоби (алкалоїд капсицин перця стручкового, порошок бодяги, мурашина кислота соку кропиви дводомної, ефірна олія соку хрону та ін.), тритерпенові сапоніни венотонізуючої дії (есцин каштану кінського, рускогенін іглиці шипуватої), речовини з капіляропротекторними та антиоксидантними властивостями (флавоноїди, гінкголіди, гідроксикоричні кислоти) [4].

На основі теоретичного обґрунтування та експериментальних досліджень нами було розроблено крем-маску та гель-маску з екстрактом пальми сабаль та настоякою софори японської для нашкірного застосування при андрогенній алопеції (АА) [5, 6]. Фітостероли плодів пальми сабаль чинять антиандрогенну дію (інгібітори 5- α -редуктази, блокатори андрогенових рецепторів) і прямо впливають на патогенез АА. Плоди софори японської вміщують високу концентрацію флавоноїдів, серед яких переважає рутин. БАР проявляє Р-вітамінну активність, знижує ламкість і проникність капілярів, підвищує здатність організму засвоювати аскорбінову кислоту, володіє антиоксидантними властивостями [7]. Комплексно капіляропротекторна та антиоксидантна дія БАР забезпечує живлення та відновлення росту клітин ВФ.

Важливим етапом у створенні нової фармацевтичної продукції є проведення доклінічних досліджень, які, як правило, передбачають використання лабораторних тварин. Дуже часто такі випробування є тривалими, коштовними та суперечливими щодо біоетичних норм. Тому перспективним у фармакології є використання біологічної моделі інфузорій *Paramecium caudatum* (тип *Protozoa*, клас *Ciliata*), а саме для вивчення антиоксидантної дії лікарських засобів та контролю за їх токсичністю [8].

Вибір *Paramecium caudatum* як біологічної моделі для проведення доклінічних досліджень обґрунтовується рядом переваг, а саме:

- інфузорії поєднують у собі морфологічні ознаки окремої клітини, але на зовнішнє середовище реагують як самостійні організми;
- їм властивий високий ступінь адаптації до змін зовнішнього середовища – вони здатні виробляти захисні реакції, скеровані на послаблення шкідливого впливу різних подразників, причому стійкість до подразників зберігається деякий час після їх вилучення;
- мікроорганізми легко культивуються, тому при дослідженні їх росту, розмноження та поведінки можна швидко та доступно отримати великий об'єм цифрової інформації [8, 9].

Мета роботи – вивчення антиоксидантних властивостей та можливого токсичного впливу дерматокосметичних засобів з рослинними субстанціями на біологічній моделі інфузорій *Paramecium caudatum*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єкти дослідження – крем-маска та гель-маска з екстрактом пальми сабаль (5 %) та настоякою софори японської (10 %), призначених для місцевого застосування при АА.

Біологічний об'єкт – інфузорії *Paramecium caudatum*, які перебували в поживному середовищі Лозина-Лозинського при рН 6,2-7,8 і температурі 20-26 °С. Для живлення парамецій використовували живі дріжджі *Rhodotorula gracilis* з додаванням пшеничного борошна [8, 9].

Для вивчення антиоксидантної (мембраностабілізуючої) дії досліджуваних зразків оцінювали їх вплив на тривалість періоду активності інфузорій в середовищі з додаванням токсичних речовин (гострий дослід). Як токсиканти використовували: 1 % розчин перексиду водню, який в умовах *in vitro* розщеплюється до перекисних радикалів і пошкоджує переважно ліпідну частину мембрани; 14 % етиловий спирт, який пошкоджує білкові структури біомембрани [8].

Для проведення експерименту готували 1 % розчини (суміші) досліджуваних зразків з водою очищеною і визначали їх рН, який повинен бути в межах від 6,2 до 7,8, тобто забезпечувати нормальну життєдіяльність інфузорій.

В гострому досліді в контрольній групі на предметне скло наносили 2 краплі середовища: одна крапля – культуральне середовище (інтактні мікроорганізми), до другої краплі додавали краплю з розчином токсиканту відповідного об'єму. В експериментальних зразках до другої краплі, крім токсиканту, додавали краплю приготовленого 1 % розчину (суміші). Під мікроскопом оцінювали тривалість рухової активності парамецій до припинення руху мікроорганізмів.

У хронічному досліді в якості контролю токсичності оцінювали реакції росту і розмноження інфузорій в поживному середовищі з додаванням досліджуваних препаратів: дослідні проби – культуральне середовище: очищена вода з додаванням досліджуваних зразків; контрольна фізіологічна проба – культуральне середовище: вода очищена. При спостереженні за *Paramecium caudatum* визначали розміри та кількість особин в одній краплі. Для підрахунку числа інфузорій використовували гемоцитометричний спосіб (камера Горяєва). Також показниками токсичності були необоротна зупинка, зміна форми і лізис парамецій. Під мікроскопом оцінювали стан парамецій за наступними критеріями: функціональні (індиферентність – клітини здійснюють рівномірні броунівські рухи; біоактивність (БА) – рухи клітин змінені: біоцидний 50 (БА₅₀) – загинуло близько 50 % клітин, біоцидний 100 (БА₁₀₀) – загинуло 100 % клітин); структурні (зміни форми, розміру і лізису), а також час повної зупинки і настання лізису.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження антиоксидантної (мембраностабілізуючої) дії розроблених препаратів на клітини інфузорій під впливом токсикантів представлені в табл. 1.

Встановлено, що досліджувані дерматокосметичні засоби в порівнянні з контрольними пробами (1 % розчином перекису водню і 14 % розчином етилового спирту) істотно подовжували період збереження рухової активності *Paramecium caudatum* в присутності клітинних отрут. Протективна дія гель-маски характеризувалась вищими показниками ($7,40 \pm 0,13$ хв

Таблиця 1

ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗРАЗКІВ НА ТРИВАЛІСТЬ ЗБЕРЕЖЕННЯ РУХОВОЇ АКТИВНОСТІ ПАРАМЕЦІЙ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ КЛІТИННИХ ОТРУТ (ГОСТРИЙ ДОСЛІД) (n = 5, P = 95 %)

Досліджувані зразки	Тривалість рухової активності парамецій, хв	
	у 1 % розчині перекису водню	у 14 % розчині етанолу
Крем-маска	$6,56 \pm 0,13$	$4,47 \pm 0,03$
Гель-маска	$7,40 \pm 0,13$	$5,14 \pm 0,04$
Контроль	$5,16 \pm 0,06$	$2,21 \pm 0,04$

в 1 % р-ні перекису водню, $5,14 \pm 0,04$ хв – у 14 % етанолі) в порівнянні з крем-маскою ($6,56 \pm 0,13$ хв та $4,47 \pm 0,03$ хв відповідно). Отримані дані підтвердили, що незважаючи на однакову концентрацію БАР, тип основи-носія також впливає на фармакологічну дію препаратів.

Аналіз результатів хронічного досліді (табл. 2) свідчить про те, що розроблені крем-маска та гель-маска є екологічно сприятливими для обраної біологічної моделі. Клітини парамецій в дослідних групах за розміром і формою не відрізнялися від клітин контрольної фізіологічної групи. Разом з тим швидкість розмноження парамецій у дослідних групах перевищувала даний показник у контролі (50 клітин *Paramecium caudatum*) більш ніж у 2 рази. Слід зазначити, що особливо сприятливим для парамецій була гель-маска, оскільки швидкість розмноження мікроорганізмів (> 200) значно перевищувала даний показник у пробах з крем-маскою (> 100). Відповідно до отриманих даних гелева основа є більш біологічно прийнятною в порівнянні з емульсійною основою крему. Свідченням позитивного впливу досліджуваних зразків на біологічну активність парамецій була також значно вища рухливість мікроорганізмів, ніж у фізіологічному контролі.

Отже, отримані результати вивчення антиоксидантної дії та токсичності в гострому і хронічному

Таблиця 2

ЕКСПРЕС-ОЦІНКА БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗРАЗКІВ НА КУЛЬТУРІ *PARAMECIUM CAUDATUM* (ХРОНІЧНИЙ ДОСЛІД) (n = 5, P = 95 %)

Досліджувані зразки	Вихідна кількість парамецій	Кількість парамецій в 0,05 мл через 3 доби	Розмір парамецій, мкм	Зміна рухової активності через 24-72 год		
				24	48	72
Крем-маска	4-5	> 100	148 ± 4	-	-	-
Гель-маска	4-5	> 200	150 ± 3	-	-	-
Фізіологічний контроль	4-5	45-50	145 ± 6	-	-	-

Примітка: «-» фізіологічна активність у межах норми, інфузорії здійснюють хаотичні броунівські рухи.

дослідах на біологічній моделі *Paramecium caudatum* підтверджують, що на клітинному рівні розроблені дерматокосметичні засоби володіють протективною дією і є нетоксичними для біоорганічної системи.

ВИСНОВКИ

1. Експериментально встановлено, що розроблені дерматокосметичні засоби чинять антиоксидантну (мембраностабілізуювальну) дію, яка статистично значимо проявляється в відтермінуванні зу-

пинки руху парамецій під впливом клітинних токсикантів.

2. У хронічному досліді доведено, що на клітинному рівні досліджувані засоби практично нетоксичні для біоорганічної системи. Під їх впливом помітно підвищувалися рухова активність і частота поділу клітин парамецій, в результаті чого на третю добу (через 72 години) їх кількість перевершувала контроль у 3-4 рази.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Святенко, Т. В. Алопеция : классификации, этиопатогенез, клинические проявления, современные возможности терапии / Т. В. Святенко, Л. А. Андриуца // *Medix. Anti-Aging*. – 2011. – № 1 (19). – С. 65–69.
2. Болотная, Л. А. Болезни волос / Л. А. Болотная, Е. И. Сарян // *Східноєвропейський журн. внутрішньої та сімейної медицини*. – 2017. – № 1. – С. 31–38.
3. Кардашова, Д. З. Комплексный подход – основа эффективного лечения алопеции / Д. З. Кардашова, И. А. Василенко, Е. А. Карасев // *Эксперимент. и клин. дерматокосметол.* – 2012. – № 1. – С. 58–63.
4. Kaushik, R. Alopecia : herbal remedies / R. Kaushik, D. Gupta, R. Yadav // *Intern. J. of Pharmac. Sci. and Res.* – 2011. – Vol. 2, Issue 7. – P. 1631–1637.
5. Федоровська, М. І. Розробка технології крем-маски з рослинними субстанціями для терапії андрогенної алопеції / М. І. Федоровська, Н. П. Половко, Н. С. Леочко // *ScienceRise : Pharmac. Sci.* – 2017. – № 3. – С. 19–24.
6. Лікувально-косметичний гель для місцевого застосування при андрогенній алопеції. Пат. 119311, Україна, А 61 К 36/00, А 61 К 31/00 / Федоровська М. І., Половко Н. П., Чупрій І. К. – заявл.: 23.02.2017 ; опубл.: 25.09.2017. – Бюл. № 18.
7. Чолак, І. С. Нові біологічно активні сполуки в сировині софори японської (*Sophora japonica* L.) та їх біологічна активність (огляд літератури) / І. С. Чолак // *Фітотерапія. Часопис*. – 2010. – № 4. – С. 82–85.
8. Володина, Т. А. Обоснование оптимального состава композиций из растительных экстрактов с использованием биологического теста на парамециях / Т. А. Володина // *Омский научный вестник. Серия Ресурсы земли. Человек*. – 2012. – № 2 (114). – С. 30–31.
9. Сабитова, Е. Б. Воспроизведение потомства парамеций и млекопитающих при различных величинах окислительно-восстановительного потенциала среды / Е. Б. Сабитова, К. М. Резников, А. Д. Брездынюк // *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. – 2012. – № 4 (123). – С. 219–222.

REFERENCES

1. Sviatenko, T. V., Andriutca, L. A. (2011). *Medix. Anti-Aging*, 1 (19), 65–69.
2. Bolotnaia, L. A., Sarian, e. I. (2017). *Skhidnoievropeiskyi zhurnal vnutrishnoi ta simeinoi medytyny*, 1, 31–38.
3. Kardashova, D. Z., Vasylenko, I. A., Karasev, E. A. (2012). *Eksperimentalnaia i klinicheskaia dermatokosmetologiya*, 1, 58–63.
4. Kaushik, R., Gupta, D., Yadav, R. (2011). Alopecia: herbal remedies. *International journal of pharmaceutical science and research*, 2 (7), 1631–1637.
5. Fedorovska, M. I., Polovko, N. P., Leochko, N. S. (2017). *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 3, 19–24.
6. Fedorovska, M. I., Polovko, N. P., Chuprii, I. K. (2017). Likuvalno-kosmetychnyi hel dla mistsevoho zastosuvania pry androhenni alopetsii. *Patent 119311, Ukraine, A61K 36/00, A61K 31/00*; declared 23.02.2017; published 25.09.2017, № 18.
7. Cholak, I. S. (2010). *Fitoterapiia. Chasopys*, 4, 82–85.
8. Volodina, T. A. (2012). *Omskii nauchnyi vestnik. Serii Resursy zemli. Chelovek*, 2 (114), 30–31.
9. Sabitova, Ye. B., Reznikov, K. M., Brezdyniuk, A. D. (2012). *Nauchye vedomosti BelGU. Serii Meditsina. Farmatsiia*, 4 (123), 219–222.

Відомості про авторів:

Федоровська М. І., канд. фарм. наук, доцент кафедри організації та економіки фармації і технології ліків, Івано-Франківський національний медичний університет. E-mail: maryana@fedorovska.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6479-6042>
 Половко Н. П., д-р фарм. наук, професор, завідувачка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>
 Стрілець О. П., д-р фарм. наук, професор кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет. E-mail: oksanastr1970@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0846-8663>

Information about authors:

Fedorovska M., candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor of the Organization and Economics in Pharmacy and Drug Technology Department, Ivano-Frankivsk National Medical University. E-mail: maryana@fedorovska.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6479-6042>
 Polovko N., doctor of Pharmaceutical Science, professor, head of the Pharmaceutical Technology of Drugs Department, National University of Pharmacy. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>
 Strilets O., doctor of Pharmaceutical Science, professor of the Biotechnology Department, National University of Pharmacy. E-mail: oksanastr1970@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0846-8663>

Сведения об авторах:

Федоровская М. И., канд. фарм. наук, доцент кафедры организации и экономики фармации и технологии лекарств, Ивано-Франковский национальный медицинский университет. E-mail: maryana@fedorovska.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6479-6042>
 Половко Н. П., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой аптечной технологии лекарств, Национальный фармацевтический университет. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>
 Стрилец О. П., д-р фарм. наук, профессор кафедры биотехнологии, Национальный фармацевтический университет. E-mail: oksanastr1970@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0846-8663>

Рекомендована д. фарм. н., професором Є. В. Гладухом

Надійшла до редакції 04.04.2018 р.