
ФАРМАЦЕВТИЧНА ТЕХНОЛОГІЯ, БІОФАРМАЦІЯ, ГОМЕОПАТІЯ

Рекомендована д. фармац. наук, проф. Т. Г. Калинюком
УДК 615.454.1:546.3-022.513.2
DOI 10.11603/2312-0967.2018.3.9339

ВИБІР ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ КРЕМУ З НАНОЧАСТИНКАМИ ЦЕРІЮ ДІОКСИДУ

©Г. В. Зайченко¹, О. А. Покотило¹, Д. В. Литкін²

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця¹, Київ

Національний фармацевтичний університет², Харків

oksana.pokotulo@gmail.com

Мета роботи. Скринінгове дослідження активності тест-зразків кремів із наночастинками церію діоксиду (НЦД) на моделі фотодинамічного запалення в мурчаків із виявленням зразка-лідера з оптимальним вмістом НЦД у складі лікарської форми для подальшого поглибленого фармакологічного вивчення крему.

Матеріали і методи. Стандартизовані НЦД розміром 6–15 нм синтезовані співробітниками ТОВ «НаноМедТех», тест-зразки кремів розроблені у НТК «Інститут монокристалів» НАН України. Фотодинамічну травму у мурчаків викликали УФ опромінюванням за допомогою ртутно-кварцової лампи. Креми наносили профілактично дозою 2 мг/см². Ступінь вираженості еритеми – головного прояву запальної реакції – оцінювали за колориметричною шкалою С. В. Суворова у динаміці. За цим показником розраховували фотопротекторну активність (ФПА). Здатність кремів попереджати запальний процес визначали за зміною температури шкірних покривів, кількості лейкоцитів та вмісту гістаміну в крові мурчаків.

Результати й обговорення. За сукупністю досліджених показників крем із 0,25 % НЦД виявив найвищу фармакологічну активність: ФПА була найбільшою серед усіх тест-зразків та становила 43,6 %. Одноразове нанесення крему сприяло нормалізації температури шкіри та вмісту гістаміну у крові, кількість лейкоцитів була на 17,4 % нижче, ніж у групі контрольної патології.

Висновки. За результатами скринінгових досліджень крем з 0,25 % НЦД визнано зразком-лідером та рекомендовано як остаточний склад лікарської форми для подальшого поглибленого фармакологічного вивчення.

Ключові слова: наночастинки церію діоксиду; фотопротекторна активність; фотодинамічна травма; скринінг; мурчаки.

Вступ. Ультрафіолетове (УФ) ураження шкіри (фотодинамічна травма, чи сонячний опік) – поширена патологія, зустрічається практично у всіх групах населення. Ризик розвитку в будь-який час року обернено пропорційний ступеню пігментації шкіри, високий серед відвідувачів соляріїв, фахівців, які працюють на відкритому повітрі на височинах, осіб, що страждають на певні дерматологічні захворювання чи контактують з фотосенсибілізуючими речовинами. Люди, які підлягають надмірному УФ опроміненню, схильні до розвитку меланоми, плоскоклітинного та базальноклітинного раку шкіри [1–3].

Для попередження УФ ураження шкіри та зниження ризику появи пов'язаних з цим злоякісних новоутворень на сьогодні застосовують фотопротектори. Поширення набули косметичні та лікарські засоби з «фізичними» фільтрами, що включають такі неорганічні сполуки, як титану діоксид (ТД) і цинку оксид. Останні ефективно відбивають та заломлюють УФ промені в небезпечних для організму діапазонах. Зазвичай дані сполуки безпечні, однак за рахунок часткового поглинання сонячної енергії можуть проявля-

ти фотокаталітичні властивості, що є причиною ураження тканин [4, 5].

Як альтернативу зазначеним вище сполукам розглядають наночастинки церію діоксиду (НЦД), зокрема завдяки подвійному механізму фотопротекторної дії останніх. З одного боку, НЦД – це ефективний «фізичний» фотопротектор – світлофільтр, здатний вибірково диспергувати сонячне світло, відбиваючи та розсіюючи небезпечні УФ хвилі і пропускаючи світло видимого діапазону. З іншого боку, НЦД є сильними антиоксидантами, що є додатковим фактором посилення ефективності даного активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) як фотопротектора та вказує на відсутність фотокаталітичної активності. Безпеку НЦД доведено у попередніх токсикологічних дослідженнях *in vitro* та *in vivo* [6–8].

Важливим етапом розробки лікарського та косметичного засобу є проведення скринінгу задля визначення оптимальної дози АФІ, яка б забезпечувала належне співвідношення користь/ризик.

Мета роботи – скринінгове дослідження активності тест-зразків кремів із наночастинками церію діоксиду

(НЦД) на моделі фотодинамічного запалення у мурчаків із виявленням зразка-лідера з оптимальним вмістом НЦД у складі лікарської форми для подальшого поглибленого фармакологічного вивчення крему.

Матеріали і методи. Стандартизовані НЦД розміром 6–15 нм синтезовані співробітниками ТОВ «НаноМедТех» (м. Київ), тест-зразки дермальних кремів розроблені у НТК "Інститут монокристалів" НАН України (м. Харків), містили наступні допоміжні речовини: діетиламіногідроксибензоїлгексилбензоат (Uvinul A Plus), етилгексилметоксцианамат (Uvinul MC 80), біс-етилгексилоксибензолметоксифенілтріазин (Tinosorb S), метилен біс-бензотріазолілететраметилбутилфенол (Tinosorb M), феноксиетанол, етилгексилгліцерин, дібутиладипат, C12-15 алкілбензоат, макрогону 20 цетостеариловий ефір, цетостеариловий спирт, циклометикон, динатрію едетат, ксантанова камедь, пропіленгліколь, вода очищена. Порівняльний склад тест-зразків кремів наведено в таблиці 1.

Фотопротекторну активність кремів вивчали на моделі фотодинамічної травми у мурчаків [9] – гострого фотодинамічного запалення шкіри (УФ еритеми), яке викликали за допомогою УФ опромінювача типу ОКН-011М (Завет, Україна). Діапазон опромінення становив 220–400 нм. Ефективність кремів з НЦД порівнювали з референтним зразком – кремом, який містить 3 % титану діоксиду, ч.д.а., виробництва Sigma-Aldrich (ТД) як АФІ, а також з кремовою основою.

Експеримент проводили на 70 нелінійних мурчаків (*Cavia porcellus*) обох статей, масою 450–500 г, розподілених на 7 груп (по 10 тварин у кожній): група 1 – контрольні здорові інтактні тварини – інтактний контроль, група 2 – опромінені тварини – контрольна патологія (УФ), група 3 – тварини, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,1 % (НЦД 0,1 % + УФ), група 4 – тварини, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,25 % (НЦД 0,25 % + УФ), група 5 – тварини, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,5 % (НЦД 0,5 % + УФ), група 6 – тварини, яким перед опроміненням наносили крем ТД 3 % – референтний зразок (ТД 3 % + УФ), група 7 – тварини,

яким перед опроміненням наносили кремову основу (плацебо + УФ).

Дослідження виконано із дотриманням положень Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22.09.2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей. Мурчаків виводили з експерименту під хлороформним наркозом через 24 год після опромінення.

Перед початком досліду всім тваринам проводили депіляцію на ділянці спини, яку умовно поділяли за допомогою трафарету на три «вікна», площа кожного з яких становила 3 см².

Джерело УФ випромінювання розміщували на відстані 10 см від поверхні шкіри тварини, час опромінення становив 3 хв та відповідав 5 МЕД (мінімальним еритемним дозам).

Креми наносили в профілактичному режимі на депільовані ділянки шкіри тварин за 20 хв до опромінення дозою 2 мг/см² згідно з міжнародними рекомендаціями [4]. Таким чином, мурчаки з груп 3, 4 і 5 отримували нашкірно дозу НЦД 0,04, 0,1 і 0,2 мг/кг, відповідно.

Оцінку ступеня вираженості еритеми проводили через 1, 2, 4, 8, 16 та 24 год після опромінення і фіксували в балах за колориметричною шкалою С. В. Суворова: 0 – відсутність еритеми, 1 – слабка еритема (рожевий тон), 2 – помірно виражена еритема (рожево-червоний тон), 3 – виражена еритема (червоний тон), 4 – різко виражена еритема (яскраво-червоний тон). За значення показника у кожній тварини приймали середнє арифметичне ступеня вираженості еритеми, виміряного у трьох вікнах [10].

Фотопротекторну активність (ФПА) кремів розраховували за формулою 1:

$$\text{ФПА} = (E_{\text{ко}} - E_{\text{кр}}) \times 100 / E_{\text{ко}}, \quad (1)$$

де $E_{\text{кр}}$ – ступінь вираженості еритеми (в балах) на ділянці шкіри, де було нанесено крем (групи 3–7), через 24 год після опромінення;

$E_{\text{ко}}$ – ступінь вираженості еритеми (в балах) на ділянці шкіри, яка підлягала УФ опроміненню (група 2 – контрольна патологія), через 24 год після опромінення.

Таблиця 1. Склад тест-зразків кремів, що піддавалися скринінговому дослідженню фотопротекторної активності (у г на 100 г)

Компоненти	Тест-зразки кремів				
	НЦД			ТД 3 % (референтний зразок)	Плацебо (кремова основа)
	0,1%	0,25%	0,5%		
НЦД	0,1	0,25	0,5	–	–
ТД	–	–	–	3,0	–
Uvinul A Plus	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Uvinul MC 80	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Tinosorb S	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Tinosorb M	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Для оцінки ступеня УФ ушкодження тканин та здатності кремів попереджати розвиток запалення протягом 4 год після опромінення визначали температуру шкірних покривів [11], що є інтегральним показником активності запального процесу та маркером васкулярних змін дерми при даній патології. Підвищення температури проявляється за рахунок вивільнення прозапальних і таких вазоактивних медіаторів, як гістамін, серотонін, брадикінін, простагландини та інтерлейкіни [12, 13]. Вимірювання температури шкірної складки тварин проводили за допомогою термометра МТ1931 (Microlife, Швейцарія).

Перебіг патологічного процесу також оцінювали за наявністю лейкоцитозу як гематологічного маркера системної запальної реакції на УФ опромінення. Забір крові проводили з вушних капілярів мурчаків безпосередньо перед дослідом та через 24 год від початку експерименту. Кількість лейкоцитів підраховували у камері Горяєва [11].

Пошкодження тканин шкіри УФ опроміненням супроводжується дегрануляцією опасистих клітин та виходом гістаміну – медіатора ранньої фази запалення [14]. Вміст даного маркера запалення в крові з вушних капілярів тварин визначали методом світлової колориметрії через одну год після опромінення. Принцип методу заснований на утворенні забарвленого комплексу гістаміну з діазотованим л-нітроаніліном [15].

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми IBM SPSS Statistics v.23 (IBM, США), з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з post-hoc порівняннями із застосуванням HSD-критерію Тьюкі (температура шкірних покривів, кількість лейкоцитів та вміст гістаміну в крові),

парного двовибіркового t-тесту для середніх (динаміка зміни температури шкірних покривів) та H-критерію Крускала–Уолліса з post-hoc порівняннями із застосуванням критерію Данна (ступінь вираженості еритеми). Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати й обговорення. Протягом експерименту динаміку розвитку фотодинамічної травми у мурчаків оцінювали за ступенем вираженості еритеми (табл. 2). У групі контрольної патології спостерігали зростання показника протягом всього періоду спостереження (24 год). У даних мурчаків виявляли ділянки особливо сильної еритеми та виразок на шкірі.

Схожу картину спостерігали у групі нанесення плацебо. Лише через 24 год після опромінення спостерігали зменшення вираженості еритеми у мурчаків, ФПА крему становила 7,7 %.

У всіх групах нанесення кремів з НЦД виявляли менший ступінь вираженості еритеми, ніж у групі контрольної патології. Найкращий результат спостерігали при застосуванні крему НЦД 0,25 %, ФПА якого складала 43,6 %, порівняно з ФПА 23,1 % і 35,9 % для кремів НЦД 0,1 % та НЦД 0,5 %, відповідно. У групі мурчаків, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,25 %, на одну годину експерименту ступінь вираженості еритеми не відрізнявся від такого у інтактних тварин. Еритема була менш вираженою, ніж у групі застосування крему НЦД 0,1 % на 2–24 год дослідів та у групі застосування крему НЦД 0,5 % – на 2–8 год. Більша ефективність крему НЦД 0,25 % порівняно з кремом НЦД 0,5 %, можливо, пояснюється тим, що наночастинки у більшій концентрації через втрату стабільності здатні утворювати конгломерати, які виявляють меншу фотопротекторну активність.

Таблиця 2. Динаміка розвитку еритеми в мурчаків в умовах моделі фотодинамічної травми та в групах тварин, яким перед опроміненням наносили тест-зразки кремів з НЦД ($n = 10$; $M \pm m$)

Групи тварин	Ступінь вираженості еритеми, бали					
	1 год	2 год	4 год	8 год	16 год	24 год
Інтактний контроль	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Контрольна патологія (УФ)	2,30±0,26*	2,50±0,27*	3,10±0,18*	3,50±0,17*	3,80±0,13*	3,90±0,10*
НЦД 0,1 % + УФ	0,30±0,15* ^{*,*,#,###}	0,80±0,20* ^{*,*,#,###}	1,80±0,20* ^{*,*,#,###}	2,30±0,21* ^{*,*,#}	2,70±0,21* ^{*,*,#}	3,00±0,26* ^{*,*,#}
НЦД 0,25 % + УФ	0,10±0,10* ^{*,#}	0,30±0,15* ^{*,*,#,†,††}	0,60±0,16* ^{*,*,#,###,†,††}	1,60±0,16* ^{*,*,#,###,†,††}	2,10±0,23* ^{*,*,#,###,†}	2,20±0,20* ^{*,*,#,###,†}
НЦД 0,5 % + УФ	0,30±0,15* ^{*,*,#,###}	0,70±0,21* ^{*,*,#,###}	1,50±0,22* ^{*,*,#}	2,10±0,23* ^{*,*,#}	2,20±0,29* ^{*,*,#,###}	2,50±0,24* ^{*,*,#}
ТД 3 % + УФ	0,00±0,00* ^{*,#}	0,30±0,15* ^{*,*,#}	1,40±0,16* ^{*,*,#}	2,30±0,21* ^{*,*,#}	2,89±0,31* ^{*,*,#}	3,00±0,26* ^{*,*,#}
Плацебо + УФ	1,80±0,33*	2,20±0,33*	2,80±0,29*	3,30±0,15*	3,50±0,17*	3,60±0,16* ^{*,**}

Примітки: n – кількість тварин у групі; * – $p < 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю; ** – $p < 0,05$ порівняно з групою контрольної патології; # – $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили плацебо, ### – $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем ТД 3 %, † – $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,1%, †† – $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,5 %.

У групі тварин, яким перед опроміненням наносили референтний зразок – крем ТД 3 %, фотодинамічна травма також була менш вираженою, ніж у групі контрольної патології. Через одну годину після опромінення ступінь вираженості еритеми не відрізнявся від такого у інтактних тварин. Однак за ефективністю крем ТД 3 % поступався крему НЦД 0,25 %. На шкірі тварин, яким наносили референтний зразок, спостерігали більшу кількість виразок, площа ураження була поширенішою. Вже через 4 год після опромінення у групі тварин, яким наносили крем НЦД 0,25 %, спостерігали на 57,1 % нижчий ступінь вираженості еритеми, ніж у групі застосування крему ТД 3 %. ФПА референтного зразка становила 23,1 %.

Таким чином, крем НЦД 0,25 % виявив найбільшу фотопротекторну активність порівняно з іншими тест-зразками кремів з НЦД за ступенем вираженості еритеми – локальної ознаки запалення, перевищуючи дію референтного зразка. На опроміненіх ділянках шкіри мурчаків, яким профілактично наносили крем з НЦД, виявлено меншу кількість виразок і глибокх уражень шкірних покривів. Площа та інтенсивність фотодинамічного запального процесу, головною складовою якого є еритема, в групі тварин, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,25 %, були меншими.

Для виявлення здатності тест-зразків кремів попереджати розвиток системного запального процесу після УФ опромінення визначали їх вплив на динаміку зміни температури шкірних покривів мурчаків. У групі інтактного контролю значення показника не виходили за межі фізіологічної норми (табл. 3). У опроміненіх мурчаків, починаючи з першої години експерименту, спостерігали підвищення температури шкіри як порівняно з інтактними тваринами, так і порівняно з вихідним значенням. Через 4 год після опромінення показник зростав на 0,35 °С.

У групі тварин, яким наносили плацебо, температура шкірних покривів протягом періоду реєстрації підвищувалася на 0,26 °С, на 4 годину була на 0,16 °С нижчою, ніж у тварин групи контрольної патології, що вказує на помірну здатність кремової основи попереджати запалення.

У групах тварин, яким перед опроміненням наносили креми з НЦД, через одну годину експозиції спостерігали зростання температури шкірних покривів, яке становило 0,28, 0,16 і 0,45 °С для кремів НЦД 0,1 %, НЦД 0,25 % та НЦД 0,5 %, відповідно. Однак значення показника нормалізувалося на 2 і 4 години експерименту. Найбільш ефективними у попередженні запалення виявилися креми НЦД 0,1 % та НЦД 0,25 % – на 4 годину експерименту температура шкірних покривів у даних групах була, відповідно, на 0,39 і 0,35 °С нижчою, ніж у групі контрольної патології.

Референтний зразок поступався за ефективністю кремам з НЦД. Через 4 год після опромінення температура шкірних покривів не відрізнялася від такої у тварин групи контрольної патології та була, відповідно, на 0,30, 0,26 і 0,33 °С вищою, ніж у групах тварин, яким наносили креми НЦД 0,1 %, НЦД 0,25 % та НЦД 0,5 %. Нормалізації показника протягом періоду визначення не спостерігали, температура шкірних покривів після нанесення крему ТД 3 % залишалася підвищеною.

Вплив тест-зразків кремів на вираженість запального процесу також оцінювали за наявністю лейкоцитозу як гематологічного маркеру реакції на УФ опромінення (табл. 4). У групах контрольної патології та нанесення плацебо спостерігали найбільш виражений лейкоцитоз – збільшення кількості лейкоцитів, відповідно, на 45,7 і 43,4 % порівняно з інтактними тваринами.

У групах тварин, яким перед опроміненням наносили креми з НЦД, лейкоцитоз був менш виражений.

Таблиця 3. Динаміка зміни температури шкірних покривів у мурчаків в умовах моделі фотодинамічної травми та в групах тварин, яким перед опроміненням наносили тест-зразки кремів з НЦД (n = 10; M±m)

Групи тварин	Температура шкірних покривів, °С			
	вихідне значення	1 год	2 год	4 год
Інтактний контроль	36,93±0,05	36,90±0,05	36,93±0,05	36,85±0,05
Контрольна патологія (УФ)	36,97±0,03	37,82±0,05*•	38,08±0,04*•	37,32±0,06*•
НЦД 0,1 % + УФ	36,90±0,03	37,18±0,07*•••,###,††•	36,97±0,06*••,###	36,93±0,05*••,###
НЦД 0,25 % + УФ	36,92±0,04	37,08±0,07*•••,###,††•	36,99±0,08*••,###	36,97±0,06*••,###
НЦД 0,5 % + УФ	36,92±0,05	37,37±0,05*••,###	37,05±0,08*••,###	36,90±0,07*••,###
ТД 3 % + УФ	36,91±0,04	37,38±0,07*•••	37,53±0,06*•••	37,23±0,08*•
Плацебо + УФ	36,90±0,03	37,50±0,04*•••	37,57±0,06*•••	37,16±0,04*•••

Примітки: n – кількість тварин у групі; * – p < 0,05 порівняно з групою інтактного контролю; ** – p < 0,05 порівняно з групою контрольної патології; # – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили плацебо, ### – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем ТД 3%, †† – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,5 %, • – p < 0,05 порівняно з вихідним значенням.

Таблиця 4. Кількість лейкоцитів у периферичній крові мурчаків в умовах моделі фотодинамічної травми та в групах тварин, яким перед опроміненням наносили тест-зразки кремів з НЦД (n = 10; M±m)

Групи тварин	Кількість лейкоцитів у крові, 10 ⁹ /л	
	вихідне значення	24 год
Інтактний контроль	11,00±0,49	11,05±0,46
Контрольна патологія (УФ)	11,15±0,43	16,10±0,31*•
НЦД 0,1 % + УФ	11,45±0,43	14,45±0,22*••,•,•
НЦД 0,25 % + УФ	11,25±0,40	13,30±0,40*••,•,•,•,†
НЦД 0,5 % + УФ	10,85±0,37	13,40±0,33*••,•,•,•
ТД 3 % + УФ	11,30±0,36	14,55±0,42*••,•,•
Плацебо + УФ	11,70±0,53	15,85±0,47*•

Примітки: n – кількість тварин у групі; * – p < 0,05 порівняно з групою інтактного контролю; ** – p < 0,05 порівняно з групою контрольної патології; # – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили плацебо, ## – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем ТД 3%, † – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем НЦД 0,1%, • – p < 0,05 порівняно з вихідним значенням.

Найбільш ефективними виявилися креми НЦД 0,25 % та НЦД 0,5 % – кількість лейкоцитів у крові мурчаків була, відповідно, на 17,4 % і 16,8 % меншою, ніж у групі контрольної патології. За зазначеним показником крем НЦД 0,1 % поступився крему НЦД 0,25 % на 8,0 %.

Референтний препарат за здатністю попереджати запалення менш ефективний, ніж креми НЦД 0,25 % та НЦД 0,5 % – лейкоцитоз у групі застосування крему ТД 3 % був, відповідно, на 8,6 % і 7,9 % більш виражений.

Гістамін є маркером ранньої фази запалення, що вивільняється з базофілів та опасистих клітин внаслідок їх деструкції. Щодо вмісту гістаміну в крові мурчаків, даний показник був найвищим у групі контрольної патології та застосування плацебо, тоді як у групі нанесення крему НЦД 0,25 % – не відрізнявся від такого у інтактних тварин (табл. 5). Креми НЦД 0,1 % та НЦД 0,5 % дещо поступалися за ефективністю – у мурчаків спостерігали підвищений вміст гістаміну в крові, але на 38,5 % і 35,4 % менший, ніж у групі контрольної патології.

Крем ТД 3 % за досліджуваним показником виявився не менш ефективним, ніж крем НЦД 0,25 %. Статистично значущих відмінностей між групами тварин, яким перед опроміненням наносили дані тест-зразки, не спостерігали.

Крем ТД 3 % за досліджуваним показником виявився не менш ефективним, ніж крем НЦД 0,25 %. Статистично значущих відмінностей між групами тварин, яким перед опроміненням наносили дані тест-зразки, не спостерігали.

Таблиця 5. Вміст гістаміну в крові мурчаків в умовах моделі фотодинамічної травми та в групах тварин, яким перед опроміненням наносили тест-зразки кремів з НЦД, через одну годину після опромінення (n = 10; M±m)

Групи тварин	Вміст гістаміну в крові, г/л
Інтактний контроль	0,050±0,002
Контрольна патологія (УФ)	0,096±0,003*
НЦД 0,1 % + УФ	0,059±0,002*••,•,•
НЦД 0,25 % + УФ	0,055±0,001**,#
НЦД 0,5 % + УФ	0,062±0,002*••,•,•,##
ТД 3 % + УФ	0,053±0,001**,#
Плацебо + УФ	0,093±0,003*

Примітки: n – кількість тварин у групі; * – p < 0,05 порівняно з групою інтактного контролю; ** – p < 0,05 порівняно з групою контрольної патології; # – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили плацебо, ## – p < 0,05 порівняно з групою тварин, яким перед опроміненням наносили крем ТД 3 %.

Висновки. 1. Профілактичне нанесення кремів з НЦД перед УФ опроміненням шкіри зменшувало прояви фотодинамічної травми у мурчаків. За фотопротекторною активністю крем НЦД 0,25 % виявився найбільш ефективним (ФПА – 43,6 % порівняно з ФПА 23,1 % і 35,9 % для кремів НЦД 0,1 % та НЦД 0,5 %, відповідно). У тварин з групи нанесення дано-

го зразка спостерігали меншу вираженість еритеми – меншу кількість виразок і глибоких виразкових уражень шкірних покривів.

2. Застосування кремів з НЦД здатне попередити розвиток системного запального процесу у мурчаків. Нашкірне нанесення крему НЦД 0,25 % сприяло найменшому (на 0,16 °С), порівняно з іншими тест-

зразками, підвищенню температури шкірних покривів через одну годину після опромінення. Через 4 год експозиції температура нормалізувалася у всіх групах нанесення кремів з НЦД.

3. У групах тварин, яким перед опроміненням нанесли креми НЦД 0,25 % та НЦД 0,5 %, спостерігали найменш виражений лейкоцитоз – кількість лейкоцитів у крові мурчаків була, відповідно, на 17,4 % і 16,8 % нижчою, ніж у групі контрольної патології. За вмістом гістаміну в крові найкращий результат продемонстрував крем НЦД 0,25 % – у мурчаків даної групи зазначений показник не відрізнявся від такого у інтактних тварин, тоді як у інших групах застосування кремів з НЦД спостерігали підвищені значення даного показника.

4. Крем НЦД 0,25 % перевищив за ефективністю референтний зразок. Вже через 4 год після опромінення у

групі тварин, яким наносили крем НЦД 0,25 %, спостерігали на 57,1 % нижчий ступінь вираженості еритеми, ніж у групі застосування крему ТД 3 %, площа ураження та кількість виразок були меншими. ФПА референтного зразка становила 23,1 %. Через 4 год після опромінення температура шкірних покривів у групі застосування референтного зразка була на 0,26 °С вищою, ніж у групі тварин, яким наносили крем НЦД 0,25 %. Крім того, у групі нанесення крему ТД 3 % спостерігали на 8,6 % більш виражений, порівняно з групою застосування крему НЦД 0,25 %, лейкоцитоз.

5. За сукупністю досліджених показників крем НЦД 0,25 % визнаний зразком-лідером та рекомендований для розробки остаточного складу лікарської форми та подальшого поглибленого фармакологічного вивчення.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА КРЕМА С НАНОЧАСТИЦАМИ ЦЕРИЯ ДИОКСИДА

А. В. Зайченко¹, О. А. Покотило¹, Д. В. Литкин²

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца¹, Киев

Национальный фармацевтический университет², Харьков

oksana.pokotulo@gmail.com

Цель работы. Скрининговое исследование активности тест-образцов кремов с наночастицами диоксида церия (НДЦ) на модели фотодинамического воспаления у морских свинок с выявлением образца-лидера с оптимальным содержанием НДЦ в составе лекарственной формы для дальнейшего углубленного фармакологического изучения крема.

Материалы и методы. Стандартизированные НДЦ размером 6–15 нм синтезированы сотрудниками ООО «НаноМедТех», тест-образцы кремов разработаны в НТК "Институт монокристаллов" НАН Украины. Фотодинамическую травму у морских свинок вызывали УФ облучателем с помощью ртутно-кварцевой лампы. Кремы наносили профилактически в дозе 2 мг/см². Степень выраженности эритемы – главного проявления воспалительной реакции – оценивали по колориметрической шкале С. В. Суворова в динамике. По этому показателю рассчитывали фотопротекторную активность (ФПА). Способность кремов предотвращать воспалительный процесс определяли по изменению температуры кожных покровов, количества лейкоцитов и содержания гистамина в крови морских свинок.

Результаты и обсуждение. По совокупности исследованных показателей крем с 0,25 % НДЦ проявил наивысшую фармакологическую активность: ФПА была наибольшей среди всех тест-образцов и составляла 43,6 %. Однократное нанесение крема способствовало нормализации температуры кожи и содержания гистамина в крови, количество лейкоцитов было на 17,4 % меньшим, чем в группе контрольной патологии.

Выводы. По результатам скрининговых исследований крем с 0,25 % НДЦ признан образцом-лидером и рекомендован как окончательный состав лекарственной формы для дальнейшего углубленного фармакологического изучения.

Ключевые слова: наночастицы церия диоксида; фотопротекторная активность; фотодинамическая травма; скрининг; морские свинки.

THE SEARCH FOR THE OPTIMAL COMPOSITION OF THE CREAM WITH CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

G. V. Zaychenko¹, O. A. Pokotylo¹, D. V. Lytkin²

Bohomolets National Medical University¹, Kyiv

National University of Pharmacy², Kharkiv

oksana.pokotulo@gmail.com

The aim of the work. The screening study of the action of the test samples of creams with cerium dioxide nanoparticles (CDN) on the model of photodynamic injury in guinea pigs with determination of the lead-sample with optimal CDN contents in the formulation for further in-depth pharmacological study of the cream.

Materials and Methods. Standardized CDN of 6–15 nm in size were synthesized in TOV 'NanoMedTech', the test samples of creams were developed in SSI 'Institute for Single Crystals' of NAS of Ukraine. Photodynamic injury was induced by UV emitter. The creams were applied preventively in the dose of 2 mg/cm². The degree of erythema intensity as the main inflammation marker was evaluated in dynamics according to S. V. Suvorov colorimetric scale, the photoprotective action (PPA) was measured then. An ability of the creams to prevent an inflammatory process was determined by the changes in skin temperature, blood leukocyte count, and blood histamine level.

Results and Discussion. The CDN 0.25 % cream showed the highest photoprotective action according to the studied indices: PPA was the highest among all the test samples and comprised 43.6 %. A single application of the cream lead to normalization of skin temperature and blood histamine level, leukocytosis was 17.4 % less pronounced than in radiation-exposed control animals.

Conclusion. According to the screening results, the CDN 0.25 % cream was proved to be the lead-sample and was recommended as an ultimate composition of the formulation for further in-depth pharmacological study.

Key words: cerium dioxide nanoparticles; photoprotective action; photodynamic injury; screening; guinea pigs.

Список літератури

1. Maresca V. Skin phototype: a new perspective / V. Maresca, E. Flori, M. Picardo // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2015. – Vol. 28, No. 4. – P. 378–389.
2. Non melanoma skin cancer pathogenesis overview / D. Didona, G. Paolino, U. Bottoni [et al.] // *Biomedicines.* – 2018. – Vol. 6, No. 1. – P. E6.
3. Sample A. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma / A. Sample, Y. Y. He // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2018. – Vol. 34, No. 1. – P. 13–24.
4. A review of critical factors for assessing the dermal absorption of metal oxide nanoparticles from sunscreens applied to humans, and a research strategy to address current deficiencies / B. Gulson, M. J. McCall, D. M. Bowman [et al.] // *Arch. Toxicol.* – 2015. – Vol. 89, No. 11. – P. 1909–1930.
5. ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells / R. K. Shukla, Y. Sharma, A. K. Pandey [et al.] // *Toxicol. In Vitro.* – 2011. – Vol. 25, No. 1. – P. 231–241.
6. Дослідження гострої токсичності крему з наночастинками діоксиду церію / В. С. Єфанов, Г. В. Зайченко, Н. С. Нікітіна, О. А. Покотило // Тези доповідей V національного з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р. – Запоріжжя, 2017. – С. 43.
7. Pokotylo O. A. The study of subchronic toxicity of the cream with cerium dioxide nanoparticles / O. A. Pokotylo, N. S. Nikitina // *Topical Issues of New Drugs Development : abstracts of XXV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students, Kharkiv, April* 18–20, 2018. – Kharkiv: NFAU Publishing House, 2018. – P. 335–336.
8. Recent advances (2010–2015) in studies of cerium oxide nanoparticles' health effects / Y. Li, P. Li, H. Yu [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 44. – P. 25–29.
9. Стефанов А. В. Биоскрининг. Лекарственные средства / А. В. Стефанов. – К. : Авиценна, 1998. – 189 с.
10. Suvorov S. V. Quantitative evaluation of erythema of the skin / S. V. Suvorov, E. B. Rabkin, V. I. Chernyshova // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 1977. – Vol. 83. – P. 284.
11. Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования : учебное пособие ; под ред. И. А. Зупанца. – [3-е изд., доп. и перераб.]. – Харьков : Золотые страницы, 2005. – 200 с.
12. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals / R. Bosch, N. Philips, J. A. Suarez-Perez [et al.] // *Antioxidants (Basel).* – 2015. – Vol. 4, No. 2. – P. 248–268.
13. Pasparakis M. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation / M. Pasparakis, I. Haase, F. O. Nestle // *Nat. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 14, No. 5. – P. 289–301.
14. Патологическая физиология : учебник / [Н. Н. Зайко, Ю. В. Быць, А. В. Атаман и др.]. – [4-е изд.]. – Москва : МЕДпресс-информ, 2007. – 640 с.
15. Климкина Н. В. Колориметрический метод определения гистамина в крови и органах лабораторных животных / Н. В. Климкина, С. И. Плитман // Биохимические методы исследования в гигиене. – Москва : Медицина, 1973. – С. 87–91.

References

1. Maresca V, Flori E, Picardo M. Skin phototype: a new perspective. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015;28(4): 378-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/pcmr.12365> [Accessed July 2018]
2. Didona D, Paolino G, Bottoni U, Cantisani C. Non melanoma skin cancer pathogenesis overview. *Biomedicines.* 2018;6(1): E6. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines6010006> [Accessed July 2018]
3. Sample A, He YY. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2018;34(1): 13-24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/phpp.12329> [Accessed July 2018]
4. Gulson B, McCall MJ, Bowman DM, Pinheiro T. A review of critical factors for assessing the dermal absorption of metal oxide nanoparticles from sunscreens applied to humans, and a research strategy to address current deficiencies. *Arch Toxicol.* 2015;89(11): 1909-30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-015-1564-z> [Accessed July 2018]
5. Shukla RK, Sharma V, Pandey AK, Singh S, Sultana S,

- Dhawan A. ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicol In Vitro*. 2011;25(1): 231-41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2010.11.008> [Accessed July 2018]
6. Iefanov VS, Zaychenko GV, Nikitina NS, Pokotylo OA. Дослідження гострої токсичності крему з наночастинками діоксиду церію [The study of acute toxicity of the cream with cerium dioxide nanoparticles]. In: V національній з'їзд фармакологів України [V National Congress of Pharmacologists of Ukraine] 2017 Oct 18-20; Zaporizhzhia (Ukraine); 2017. p. 43. Ukrainian.
7. Pokotylo OA, Nikitina NS. The study of subchronic toxicity of the cream with cerium dioxide nanoparticles. In: *Topical Issues of New Drugs Development; XXV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students 2018 Apr 18-20; Kharkiv (Ukraine): Vydavnytstvo NFaU; 2018. p. 335-6.*
8. Li Y, Li P, Yu H, Bian Y. Recent advances (2010–2015) in studies of cerium oxide nanoparticles' health effects. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2016;44: 25-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2016.04.004> [Accessed July 2018]
9. Stefanov AV. Bioskrining. Lekarstvennye sredstva [Bio-screening. Drugs]. Kiev: Avitsenna; 1998. Russian.
10. Suvorov SV, Rabkin EB, Chernyshova VI. Quantitative evaluation of erythema of the skin. *Bull Exp Biol Med*. 1977;83: 284. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00799448> [Accessed July 2018]
11. Zupanets IA. Klinicheskaia laboratornaia diagnostika: metody issledovania [Clinical laboratory diagnostics: research design]. Kharkov: Zoloty Stranitsy; 2005. Russian.
12. Bosch R, Philips N, Suarez-Perez JA, Juarranz A, Devmurari A, Chalensouk-Khaosaat J, et al. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals. *Antioxidants (Basel)*. 2015;4(2): 248-68. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox4020248> [Accessed July 2018]
13. Pasparakis M, Haase I, Nestle FO. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(5): 289-301. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3646> [Accessed July 2018]
14. Zaiko NN, Byts YuV. Patologicheskaia fiziologia [Pathological physiology]. Moskva: MEDpress-inform; 2007. Russian.
15. Klimkina NV, Plitman SI. Колориметрический метод определения гистамина в крови и органах лабораторных животных [Colorimetric method of determination of histamine in blood and organs of laboratory animals]. In: *Биохимические методы исследования в гигиене [Biochemical research design in hygiene]. Moscow: Meditsina; 1973. Russian.*

Отримано 18.06.2018