

## СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОСМЕЦЕВТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА С БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ НАНОСЕЛЕНА

Геляхов И.М., Компанцев Д.В., Привалов И.М., Степанова Э.Ф.

*ФГБОУ ВО «Пятигорский медико-фармацевтический институт» филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Пятигорск, e-mail: igor.privacy@gmail.com*

В статье приведены результаты экспериментальных исследований по созданию космецевтического липосомального средства с биологически активными композициями наноселена. По результатам биологического скрининга в опытах *in vitro* изучены фармакотоксикологические свойства наноселена и установлена оптимальная дозировка наноселена и вспомогательных веществ в составе крем-бальзама. Разработана инновационная технология нового косметического липосомального средства, обогащенным эссенциальным нульвалентным селеном с размером наночастиц 20–70 нм. Для разработанного липосомального крем-бальзама с наноселеном в опытах *in vivo* установлено наличие фармакологического эффекта в отношении противовоспалительной, ранозаживляющей и пролиферативной активности. Противовоспалительные и ранозаживляющие свойства наноселена в липосомальной композиции впервые использованы в практике отечественной космецевтики. Обоснована предполагаемая востребованность разработанного космецевтического средства. Созданный крем-бальзам может быть рекомендован как для нормальной, так и для: для склонной к раздражению и поврежденной кожи.

Ключевые слова: наноселен, липосомы, космецевтическое средство, крем-бальзам.

## CREATION AND INVESTIGATION OF A COSMETROVIC MEANS WITH BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOSITIONS OF A NANOSELENE

Geljahov I.M., Kompantsev D.V., Privalov I.M., Stepanova E.F.

*FGBOU VO Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, e-mail: v.l.adzhienko@pmedpharm.ru*

In the article results of experimental researches on creation of cosmeceutical liposomal agent with biologically active nanoselenium compositions are resulted. Based on the results of biological screening in *in vitro* experiments, the pharmacotoxicological properties of nanoselenium have been studied and the optimal dosage of nanoselenium and auxiliary substances in the composition of cream-balm has been established. An innovative technology of a new cosmetic liposomal preparation enriched with essential zero-valent selenium with the size of nanoparticles of 20 - 70 nm has been developed. For the developed liposomal cream-balm with nanoselenium, *in vivo* experiments, a pharmacological effect was established with respect to anti-inflammatory, wound-healing and proliferative activity. Anti-inflammatory and wound healing properties of nanoselenium in the liposome composition were first used in the practice of domestic cosmeceuticals. The estimated demand for the developed cosmeceutical agent is substantiated. Created cream balm can be recommended for both normal and for: prone to irritation and damaged skin.

Keywords: nanoselenium, liposomes, cosmeceutical agent, cream-balm.

Интенсивная восстанавливающая косметика последнего поколения профессионального уровня, прежде всего, содержит биологически активные ингредиенты с анти-оксидантными свойствами, благотворно влияющие на состояние кожных покровов и стимуляцию процессов клеточного метаболизма. Оптимальный баланс витаминов, макро- и микроэлементов крайне важен для обеспечения биохимических и физиологических процессов, протекающих в коже.

Микроэлемент селен один из девятнадцати наиболее важных микроэлементов, обеспечивающих не только здоровье, но и нормальное функционирование органов и систем

организма. Белки, содержащие селен, относятся к группе «селенопротеинов». Селен обеспечивает работу и активность глутатионпероксидазы – основного фермента, участвующего в детоксикации организма и играющего ключевую роль в защите организма от оксидативного стресса. Кроме того, селен-содержащие ферменты обеспечивают рециркуляцию аскорбиновой кислоты, восстановителя и кофермента метаболических процессов, в активную форму. Селено-содержащие ферменты из группы дейодиназы обеспечивают превращение не активного гормона Т4 в более активный Т3[1].

В активном центре фермента-антиоксиданта глутатионпероксидазы находится остаток аминокислоты селеноцистеина. Глутатионпероксидаза, защищая от окисления белки, липиды и восстанавливая липидные перекиси, предотвращает нарушение клеточных мембран, не допускает их деформацию, нарушения в структуре ДНК, тем самым помогает сдерживать процесс старения кожи и восстанавливать ее структуру, разглаживать мелкие морщины, оказывает противовоспалительное действие при дерматологических заболеваниях. Дефицит селена может проявляться в виде сухой, шершавой кожи, медленно заживающих кожных ран, подверженности кожи инфекции, появления на ней высыпаний, трещинок, гематом. Потребность кожи в селене увеличивается под воздействием ультрафиолетового излучения, электрических разрядов, радиации.

В последнее время широкое распространение получили космецевтические средства в состав которых включен селен. Эта косметика, во-первых, улучшает клеточную функцию кожи, ускоряя процессы ее регенерации, во-вторых, повышает выработку коллагена, и соответственно улучшает эластичность кожи, в-третьих, минимизирует фотоповреждения от солнца.

Можно выделить три поколения препаратов, содержащих селен.

Первое поколение этих препаратов основано на селенате и селените натрия, сернистом селене. Препараты этого поколения обладают невысокой биодоступностью, имеют побочные действия.

Препараты второго поколения основаны на соединениях селена с биолигандами (селен-цистеин, селен-метионин или двухвалентные формы селена). Они более безопасны, биодоступны и имеют большую эффективность.

В препаратах третьего поколения используется наносредство, представляющее собой наномолекулярную селенопротеиновую матрицу, содержащую селен. Основное преимущество препаратов третьего поколения заключается в их более низкой токсичности, причем стабилизированные белком наночастицы селена с размерами 20–60 нм обладают высокими проникающими свойствами, лучше накапливаются в тканях, сохраняя при этом весь спектр биологической активности ионного селена, восполняя его необходимый запас и

активируя синтез селенсодержащих ферментов [2, 3]. Наноразмерность частиц селена позволяет использовать их в составе антивозрастных космецевтических средств, поскольку обеспечено не только глубокое проникновение активного вещества в глубинные слои кожи, но и адресная доставка биологически активных ингредиентов.

Актуальность использования наноселена в космецевтике обуславливается возможностью длительного применения таких препаратов с минимальным риском развития побочных эффектов.

В качестве полимера, стабилизирующего селенопротеиновую матрицу при применении наноселена для кожных покровов, часто выбирают хитозан [4]. Хитозан проникает в кожу не только трансдермально, но и трансфолликулярно, трансгландулярно. Известно, что он эффективно связывает ионы водорода, различных металлов (в том числе токсичных и радиоактивных) и органических водорастворимых веществ, имеет отличный сорбирующий эффект, хитозан стимулирует регенерационные процессы кожи.

Несмотря на существующие дискуссии относительно эффективности использования липосом, с целью транспортировки биологически активных веществ в глубокие слои кожи, липосомы по-прежнему используются в качестве транспортного средства биологически активных веществ, не разрушающихся на поверхности эпидермиса, так они биологически совместимы с клетками кожи и липосомная частица просто встраивается в липидные бислои мембран [5].

**Цель исследования:** разработка и исследование липосомального крем-бальзама с наноселеном.

#### **Материалы и методы исследования**

На разных этапах работы объектами исследований являлись: субстанция наноселена на подложке из бычьего сывороточного альбумина, стабилизированного хитозаном, липосомальные основы различных составов и способов получения, разработанное космецевтическое средство.

В ходе разработки и исследования крем-бальзама применялись технологические, биофармацевтические и фармакологические методы исследований.

#### **Результаты исследования и их обсуждения**

Учитывая все положительные стороны воздействия наноселена на кожу, в качестве активного антиоксиданта для введения в липосомальную композицию применялся наномолекулярный селенопротеин.

В результате многостадийно факторного анализа была выбрана матрица-носитель для наноселена – бычий сывороточный альбумин, стабилизированный хитозаном.

Так как наноселен с хитозановым комплексом для космецевтических средств применялся впервые, сначала исследовали его токсичность *in vitro* на модели *Parameciumcaudatum*. Было установлено отсутствие токсичности субстанции наноселена в концентрациях менее 0.00014 мг/мл.

Следующим этапом наших исследований был выбор способа получения липосом. Исследовались три широко используемых способа: приготовление липосом: методом обращения фаз, инъекционным методом, методом ручного встряхивания. По результатам проведенных технологических исследований установлено, что диаметр везикул липосом с наноселеном, сформированных методом встряхивания, оптимально подходит для разрабатываемого крема бальзама [6]. Мультиламеллярная структура полученной композиции способствует глубокому проникновению активных ингредиентов и может применяться для любого типа кожи. Основа, в которую вводились липосомы, представляла собой гель, способный стабилизировать липосомы, и имела следующий состав: вода, глицерин, масло оливковое, лецитин, витамин Е, эпофен, веторон, диквертин, циклометикон, натрия хлорид, нейтрализованный карбомер, шаромикс, катон, парфюмерная композиция.

Кроме того, установлено, что хитозан, используемый для стабилизации наноселена, является дополнительным источником стабилизации и самих липосом, увеличивая срок хранения липосомальной композиции.

Первичные скрининговые исследования полученной липосомальной композиции наноселена, проведенные в опытах *in vitro* на парамециях, продемонстрировали высокую биологическую активность и мембранотропное действие. Проведенные исследования дали основания предполагать, что липосомальный крем с наноразмерными частицами селена должен существенно выступать как активатор клеточного метаболизма и улучшать барьерно-защитную функцию кожных покровов.

Следующим этапом для разработанной рецептуры было проведение более детальных испытаний в опытах *in vivo*, в частности изучение ранозаживляющего действия и противовоспалительной активности.

Эксперименты *in vivo* проводились на крысах-самцах линии Wistar весом 200–250 г, полученных из вивария Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ.

Животные содержались по шесть особей в клетке, при естественном освещении, с обычным рационом питания и свободным доступом к воде.

Изучение ранозаживляющего действия разработанного средства проводилось на модели линейной кожной раны (размер 1 см) [7, 8].

Перед экспериментом крысы были разделены на 4 группы по 6 животных в каждой. Первая группа (контрольная) – животные, не получавшие лечения после нанесения раны. Вторая группа (опытная) – животные, которым на рану ежедневно наносили разработанный липосомальный крем-бальзам.

Третья группа (опытная) – животные, которым ежедневно на повязку наносили раствор наноселена.

Поскольку липосомальных кремов с наноселеном нет, то в качестве препарата сравнения был выбран мультиламеллярный крем Anna Lotan с липосомами / Lipo Soft Cream (серия Classic) производство Израиля с регенерирующим эпидермальным эффектом.

Четвертая группа (препарат сравнения) – животные, которым на рану ежедневно наносили крем Anna Lotan.

Визуальное наблюдение за линейной раной и динамикой раневого процесса продемонстрировало:

– в первые сутки после нанесения линейной раны у крыс всех экспериментальных групп выявлена интенсивная местная воспалительная реакция в виде гиперемии и отечности тканей, граничащих с раневой поверхностью;

– на третьи сутки эксперимента у всех животных на поверхности линейной раны начал формироваться образовался струп;

– у животных контрольной группы и группы, получающий раствор наноселена, наблюдалось фрагментарное отторжение струпа. У животных оставшихся групп наблюдалось плотное прилегание струпа к поверхности линейной раны.

Появление молодой соединительной ткани в виде грануляций являлось признаком заживления раны. Показатели ранозаживляющего действия приведены в таблице 1.

При применении экспериментального крем-бальзама с наноселеном на 10 день наблюдения все раны зажили без рубцов. Средняя скорость заживления раны составила  $2,4 \pm 0,2$  мм/сутки. В группе животных, которым накладывалась повязка, смоченная раствором наноселена, раны зажили на 11 день, рубцов нет, однако в течение первой половины наблюдений размер раны уменьшался плохо, раневая поверхность мокла, затем процесс эпителизации пошел быстрее. В группе сравнения раны уменьшались равномерно, зажили на 11 день, рубцов нет. Средняя скорость заживления раны составила  $2,25 \pm 0,3$  мм/сутки. В контрольной группе раны зажили на 12 день, раневая поверхность гноилась, имеются рубцы. Средняя скорость заживления раны составила  $2,0 \pm 0,2$  мм/сутки.

Таблица 1

Показатели ранозаживляющего действия

Препарат	Средний линейный размер раны (мм)					
	6 день	7 день	8 день	9 день	10 день	11 день
Контроль (физ. р-р)	6,00± 0,012*	4,67± 0,016*	3,33± 0,023*	2,33± 0,134*	0,67± 0,216*	0,33± 0,021*
Опытный образец (крем-бальзам с наноселеном)	4,33± 0,075*	2,67± 0,040*	1,67± 0,040*	1,00± 0,024*	0	0
Опытный образец (повязка, смоченная наноселеном)	6,00± 0,012*	4,50± 0,016*	2,75± 0,045*	1,41± 0,037*	0,43± 0,034*	0
Препарат сравнения (Anna Lotan крем с липосомами )	5,00± 0,024*	3,00± 0,029*	2,33± 0,012*	1,00± 0,034*	0,33± 0,006*	0

Примечание: \* – изменения достоверны относительно контроля,  $p < 0,05$ ;  
M – среднее арифметическое;  
m – стандартная ошибка среднего арифметического.

Результаты исследования, приведенные в таблицы 1, свидетельствуют, что наиболее выраженным ранозаживляющим эффектом обладает экспериментальный липосомальный крем-бальзам с наноселеном, достоверно уменьшая сроки заживления линейной раны.

Влияние экспериментального крема с наноселеном на течение воспалительного процесса (интенсивность экссудативной фазы и качество процесса пролиферации) изучали на 24 крысах-самцах линии Wistar массой 200–250 г. Пролиферативное воспаление индуцировалось имплантацией простерилизованного ватного шарика массой 15 мг. У животных под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг) в асептических условиях после разреза всех слоев кожи формировали полость, в которую вкладывали ватный шарик, затем края раны сшивали [6, 7].

На 8 сутки опыта имплантированный шарик с образовавшейся вокруг него грануляционной тканью извлекался из полости, взвешивался и высушивался до постоянного веса при температуре 60 °С в течение нескольких дней. О величине экссудативной фазы воспаления судили по разнице в весе шарика до и после высушивания, о величине пролиферативной фазы – по разнице в весе высушенного и исходного шарика.

Контрольным животным повязка пропитывалась физиологическим раствором. В первой опытной группе исследуемый липосомальный крем-бальзам с наноселеном на хитозановой основе наносили тонким слоем на стерильную марлевую повязку. На протяжении восьми дней повязка менялась один раз в сутки. Второй опытной группе повязка пропитывалась раствором наноселена. Группе сравнения наносили тонким слоем на стерильную марлевую салфетку крем Anna Lotan.

Результаты опыта, обработанные методами вариационной статистики, представлены в таблице 2.

Таблица 2

Показатели противовоспалительной активности липосомального крем-бальзама с наноселеном на модели пролиферативного воспаления

Группы животных	Количество животных	Экссудация, мг	Пролиферация, мг
Контроль (физ. раствор)	6	128,75±0,37 *	17,58±0,16 *
Опытный группа (крем-бальзам с наноселеном)	6	109,51±0,53 *	13,11±0,17 *
Опытный группа (повязка, смоченная наноселеном)	6	114,21±0,42 *	15,55±0,20 *
Группа сравнения (крем Анна Lotan с липосомами )	6	123,11±0,91 *	16,75±0,10 *

Примечание: \* – изменения достоверны относительно контроля,  $p < 0,05$ ;  
M – среднее арифметическое;  
m – стандартная ошибка среднего арифметического.

Как показали исследования, разработанный крем-бальзам с наноселеном достоверно снижает величину отёка относительно контроля на 14,9,0 %, раствор наноселена – на 8,3 %, препарат сравнения Анна Lotan с липосомами – на 4,3 %.

Применение липосомального крем-бальзама с наноселеном на хитозановой основе выявило достоверное снижение синтеза грануляций на 25,4 %, применение раствора наноселена – на 11,5 %, препарата сравнения – на 4,7 %.

На модели пролиферативного воспаления установлено, что разработанный крем-бальзам имеет выраженное противовоспалительное действие.

**Выводы.** По результатам проведенных исследований установлено, что разработанное космецевтическое средство, крем-бальзама с наноселеном на хитозановой основе обладает ранозаживляющим и противовоспалительным эффектом. Добавление наноселена на хитозановой основе в липосомальную основу позволяет рассматривать полученную композицию как активатор клеточного метаболизма, интенсифицирующий процессы обновления клеток, тканевой регенерации, эпителизации ран. Противовоспалительные и ранозаживляющие свойства наноселена в липосомальной композиции впервые использованы в практике отечественной космецевтики.

Созданный крем-бальзам может быть рекомендован как для нормальной, так и для склонной к раздражению и поврежденной кожи. Входящие в состав липосомальной основы

фосфолипиды поддерживают водно-жировой баланс кожи; наноселен на хитозановой основе не только предохраняет кожу от вредного воздействия внешних факторов, но и стимулирует естественный процесс восстановления клеток, тем самым предотвращая преждевременное старение кожи, восстанавливая ее структуру, что придает кожным покровам бархатистость и упругость, устраняет раздражение и шелушение, Разработанные рецептуры можно использовать как в промышленных условиях, так и в условиях малого бизнеса

### Список литературы

1. Решетник Л.А., Парфенова Е.О. Биотехимическое и клиническое значение селена для здоровья человека / Л.А. Решетник, Е.О. Парфенова // Сиб. мед. журнал. –1999. – Т. 18. – № 3. – С. 16-22.
2. Карпова Е.А., Демиденко О.К., Ильина О.П. К вопросу о токсичности препаратов на основе наноселена / Е.А. Карпова, О.К. Демиденко, О.П. Ильина // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4. – С. 207-210.
3. Zhang J., Wang X, Xu T. Elemental selenium at Nano Size (Nano-Se) as a potential chemopreventive Agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with Se-Methelselenocysteine in mice // Toxicological sciences. 2008. No. 101 (1). P. 22-30.
4. Серов А.В., Храмцов А.Г. Новый биологически активный препарат на основе наночастиц селена / А.В. Серов, А.Г. Храмцов // Вестник СевКавГТУ. – 2010. – № 4 (25). – С. 122 – 125.
5. Краснюк И.И., Михайлова Г.В., Чижова Е.Т. Лечебно-косметические средства / И.И. Краснюк Г.В. Михайлова, Е.Т. Чижова. – М.: Академия, 2008. – 240 с.
6. Бажутин Н.Б., Золин В.В., Колокольцов А.А., Таргонский С.Н. Перспективы применения липосомальных препаратов в медицинской практике / Н.Б. Бажутины [и др.] // Terra Medica. – 2003. – № 3. – С. 3-6.
7. Сюбаев Р.Д. Современные подходы к доклинической оценке безопасности комбинированного действия лекарственных средств / Р.Д. Сюбаев // Токсикологический вестник. – 2010. – № 5. – С. 12.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян, В. Г. Кукес [и др.]. – М: ЗАО «Гриф и К», 2012. – 244 с.