

**ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ  
АКТИВНОСТИ ФИТОКОСМЕТИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ *IN VITRO* И *IN VIVO*  
POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF  
PHYTOSMETIC PRODUCTS *IN VITRO* AND *IN VIVO***

**Аннотация.** Окислительный стресс играет важную роль в старении и заболеваниях кожи. Благодаря полезным биологическим свойствам растительные экстракты и масла являются привлекательными ингредиентами для косметики. В этой работе сообщается о применении потенциометрического метода с использованием медиаторной системы гексацианоферратов калия для оценки антиоксидантной активности (АОА) пяти фитокосметических продуктов *in vitro* и *in vivo*. Показано, что АОА фитокосметического продукта коррелирует с увеличением АОА кожи добровольца, но не с количеством растительных ингредиентов.

**Abstract.** Oxidative stress plays an important role in aging and skin diseases. Due to their beneficial biological properties, plant extracts and oils are attractive ingredients for cosmetics. This paper reports on the application of a potentiometric method using a mediator system of potassium hexacyanoferrates to evaluate the antioxidant activity (AOA) of five phytocosmetic products *in vitro* and *in vivo*. It has been shown that the AOA of a phytocosmetic product correlates with an increase in the AOA of the volunteer's skin, but not with the amount of plant ingredients.

**Ключевые слова:** антиоксидант, антиоксидантная активность, антиоксидантная эффективность, фитокосметика, потенциометрия.

**Keywords:** antioxidant, antioxidant activity, antioxidant efficiency, phytocosmetics, potentiometry.

Кожа является самым большим органом тела человека и выполняет ряд жизненно важных функций, таких как защитная, терморегуляторная, экскреторная, эндокринная, метаболическая, рецепторная и другие [1]. Растущий интерес к молодому внешнему виду стимулировал большое количество исследований в области старения, нутрицевтиков и космецевтиков. Важную роль в старении кожи играет окислительный стресс, который

является прямым следствием повышенного образования свободных радикалов и/или дефицита систем антиоксидантной защиты. С одной стороны, ультрафиолетовое излучение, озон, загрязняющие вещества и прочие внешние агрессоры постоянно воздействуют на кожу и способствуют синергетическому накоплению свободных радикалов [2]. С другой стороны, активность антиоксидантных ферментов снижается с возрастом [3]. Кроме того, окислительный стресс оказался вовлеченным в патогенез некоторых кожных заболеваний, включая дерматит, витилиго, акне, розацеа, псориаз, рак и некоторых других [4]. Эти факторы послужили обоснованием для использования антиоксидантов в средствах для наружного применения. Используемые в косметической промышленности антиоксиданты могут быть классифицированы на четыре основные группы: витамины; аминокислоты, пептиды, протеины; ферменты, коферменты; растительные экстракты и масла. Используемые с незапамятных времен растения получили мощное возвращение в косметическую промышленность. Вторичные метаболиты растений (полифенолы) обладают антиоксидантной, противовоспалительной, противораковой и антипатогенной активностью [5, 6], что делает их привлекательными ингредиентами в фитокосметике.

В зависимости от экспериментального дизайна антиоксидантная эффективность косметических средств может быть протестирована *in vitro* (в модельных условиях), *ex vivo* (при нанесении на иссеченную кожу) или *in vivo* (при нанесении на кожу живого организма). Информативность этих исследований увеличивается в следующей последовательности: *in vitro* < *ex vivo* < *in vivo*. В то же время максимально информативные и достоверные результаты могут быть получены с применением комплексного подхода. Сообщалось о применении хроматрии [7], электронного парамагнитного резонанса [8], циклической вольтамперометрии [9] и потенциометрии [10; 11] для оценки антиоксидантной эффективности косметических продуктов *ex vivo* и/или *in vivo*.

В этом исследовании пять фитокосметических продуктов торговой марки «Чистая линия» (ООО «Юнилевер Русь») были отобраны для анализа: крем-мусс, крем-гель, сыворотка, крем дневной и крем ночной питательный. АОА фитокосметических продуктов *in vitro* и *in vivo* оценивали потенциометрическим методом с использованием медиаторной системы гексацианоферратов калия ( $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ ). В измерениях использовали натрий-фосфатный буфер pH 5, уровень которого соответствует интервалу pH здоровой кожи человека (4,1–5,8) [12]. АОА фитокосметических продуктов *in vitro* определяли по методике [10] с некоторыми изменениями. Навеску фитокосметического продукта гомогенизировали в течение 2 минут с натрий-фосфатным буфером pH 5, содержащим 1 мМ  $K_3[Fe(CN)_6]$  и 0,01 мМ  $K_4[Fe(CN)_6]$ , с помощью низкочастотного ультразвука. Ультразвуковой жидкостный процессор VCX 750 (Sonics & Materials Inc., США) в комплекте с микронаконечником (Ø 2

мм) использовали в качестве источника ультразвуковой кавитации мощностью 750 Вт, частотой 20 кГц и амплитудой 105 мкм. Полученные таким образом эмульсии характеризовались однородной консистенцией. Образование косметических эмульсий под воздействием ультразвука сопровождалось их нагревом, поэтому перед анализом их охлаждали на водяной бане до комнатной температуры. Также было исследовано влияние поверхностно-активных веществ (гексадецилтриметиламмоний бромида, лаурилсульфата натрия, Тритон Х-100) и спиртов (этанола, изо-пропанола, бутанола) на процесс гомогенизации реагента с фитокосметическими продуктами в условиях механического перемешивания, однако в этом случае полученные реакционные смеси содержали не перемешанные включения образцов. АОА фитокосметических продуктов *in vivo* оценивали по методике [11] с участием некурящей женщины в возрасте 28 лет с фототипом кожи II по шкале Фитцпатрика [13]. АОА кожи добровольца измеряли на участках без (контроль) и с нанесенным фитокосметическим продуктом в течение 1, 3, 5 и 8 часов. В измерениях использовали гибкую потенциометрическую сенсорную систему, состоящую из микропористой мембраны, двух индикаторных электродов и одного электрода сравнения. Мембрану пропитывали натрий-фосфатным буфером pH 5, содержащим 1 мМ  $K_3[Fe(CN)_6]$  и 0,05 мМ  $K_4[Fe(CN)_6]$ . Использование трехэлектродной конфигурации потенциометрической сенсорной системы позволило получать два результата за одно измерение. Эффективность фитокосметического продукта характеризовали отклонением АОА кожи добровольца на участке с нанесенным образцом относительно контрольного участка ( $\Delta AOA$ ). Оцениваемыми параметрами выступали время, в течение которого наблюдается увеличение АОА кожи после нанесения фитокосметического продукта (t), и величина максимального приращения АОА кожи ( $\Delta AOA_{max}$ ). Полученные результаты представлены в таблице 1.

Табл. 1. Результаты анализа фитокосметических продуктов.

Фитокосметический продукт	Количество растительных ингредиентов	АОА, мкмоль-экв/г ( <i>in vitro</i> )	t, ч ( <i>in vivo</i> )	$\Delta AOA_{max}$ , мкмоль-экв/л ( <i>in vivo</i> )
Крем-мусс	9	0,075 ± 0,009	≤ 5	0,047
Крем-гель	9	0,112 ± 0,010	≤ 5	0,125
Сыворотка	14	0,213 ± 0,018	≤ 5	0,875
Крем дневной	13	0,114 ± 0,011	≤ 8	0,077
Крем ночной питательный	6	0,145 ± 0,012	> 8	0,150

Нанесение крем-мусса, крем-геля и сыворотки приводило к статистически значимому увеличению АОА кожи добровольца в течение 3 часов. Крем дневной и крем ночной питательный вызывали статистически значимое увеличение АОА кожи респондента в

течение 5 и 8 часов, соответственно. Продолжительность антиоксидантного воздействия фитокосметических продуктов была скорректирована с помощью интерполяции (табл. 1).

Как показано на рисунке 1, АОА фитокосметического продукта коррелировала с максимальным приращением АОА кожи добровольца ( $r = 0,92, p < 0,05$ ), но не с количеством растительных ингредиентов ( $r = 0,44, p > 0,05$ ).

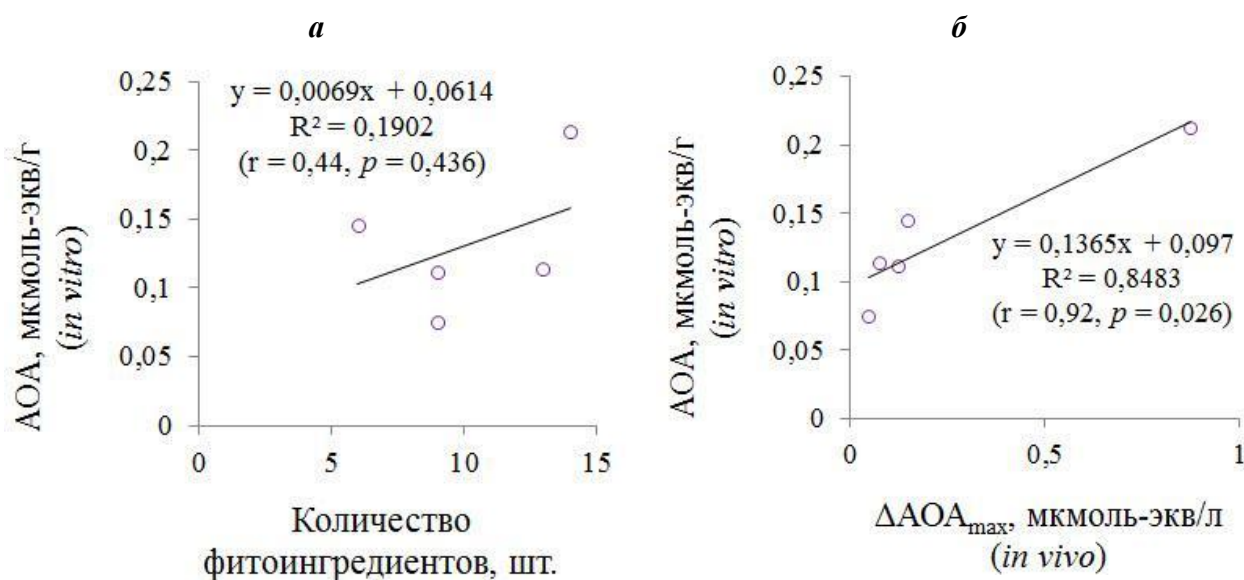


Рис. 1. Корреляция АОА фитокосметического продукта с количеством растительных ингредиентов (а) и максимальным приращением АОА кожи добровольца (б).

### Список литературы

1. Быков В. Л. Частная гистология человека (краткий обзорный курс). 2-е изд. СПб. : СОТИС, 1997. 300 с.
2. Additive effect of combined pollutants to UV induced skin OxInflammation damage. Evaluating the protective topical application of a cosmeceutical mixture formulation / F. Ferrara, B. Woodby, A. Pecorelli et al. // Redox Biology. 2020. Vol. 34. Art. 101481. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101481>.
3. Changes in the blood antioxidant defense of advanced age people / M. Kozakiewicz, M. Kornatowski, O. Krzywińska, K. Kędziora-Kornatowska // Clinical Interventions in Aging. 2019. Vol. 14. P. 763–771. <https://doi.org/10.2147/CIA.S201250>.
4. Baek J., Lee M.-G. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology // Redox Report. 2016. Vol. 21, no. 4. P. 164–169. <https://doi.org/10.1179/1351000215Y.0000000015>.
5. Kumar S., Pandey A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview // The Scientific World Journal. 2013. Vol. 2013. Art. 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>.

6. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products / O. V. Zillich, U. Schweiggert-Weisz, P. Eisner, M. Kerscher // *International Journal of Cosmetics Science*. 2015. Vol. 37, no. 5. P. 455–464. <https://doi.org/10.1111/ics.12218>.
7. Determination of antioxidant efficacy of cosmetic formulations by non-invasive measurements / S. Vertuani, P. Ziosi, N. Solaroli et al. // *Skin Research and Technology*. 2003. Vol. 9, no. 3. P. 245–253. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2003.00018.x>.
8. Determination of the antioxidant status of the skin by in vivo-electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy / S. B. Lohan, A.-C. Lauer, S Arndt et al. // *Cosmetics*. 2015. Vol. 2, no. 3. P. 286–301. <https://doi.org/10.3390/cosmetics2030286>.
9. Chapter 8. Voltammetric sensors for the determination of antioxidant properties in dermatology and cosmetics / C. Guitton, A. Ruffien-Ciszak, P. Gros, M. Comtat // *Electrochemical Sensor Analysis : Comprehensive Analytical Chemistry series*. Vol. 49. Amsterdam : Elsevier, 2007. P. 163–180. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(06\)49008-5](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(06)49008-5).
10. Noninvasive method of determining skin antioxidant/oxidant activity: Clinical and cosmetics applications / Kh. Z. Brainina, E. L. Gerasimova, D. P. Varzakova, Y. E. Kazakov, L. G. Galperin // *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*. 2013. Vol. 5, no. 5. P. 528–542.
11. Flexible potentiometric sensor system for non-invasive determination of antioxidant activity of human skin: Application for evaluating the effectiveness of phytocosmetic products / A. V. Tarasov, E. I. Khamzina, M. A. Bukharinova, N. Yu. Stozhko // *Chemosensors*. 2021. Vol. 9, no. 4. Art. 76.
12. Proksch E. pH in nature, humans and skin // *The Journal of Dermatology*. 2018. Vol. 45, no. 9. P. 1044–1052.
13. Fitzpatrick skin phototype // The Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency (ARPANSA): сайт. URL: [https://www.arpansa.gov.au/sites/default/files/legacy/pubs/RadiationProtection/FitzpatrickSkinType.pdf?acsf\\_files\\_redirect](https://www.arpansa.gov.au/sites/default/files/legacy/pubs/RadiationProtection/FitzpatrickSkinType.pdf?acsf_files_redirect) (дата обращения: 15.05.2023).