

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ У СКЛАДІ ЛІКАРСЬКИХ ТА КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ

© І. Р. Пелех¹, С. Б. Білоус¹, Р. І. Вільданова², О. М. Шульга²

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹
Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії
імені Л. М. Литвиненка НАН України², Львів*

Резюме: у статті узагальнено дані літератури про поверхнево-активні речовини, які отримують мікробним синтезом. Різноманітність фізико-хімічних та біологічних властивостей біогенних поверхнево-активних речовин визначає перспективу їх дослідження як безпечних для людини емульгаторів, стабілізаторів та консервантів у складі лікарських та косметичних засобів.

Ключові слова: поверхнево-активні речовини, біоПАР, лікарські засоби, косметичні засоби, антимікробна активність, консерванти.

Вступ. Останнім часом спостерігається стійка тенденція до створення лікарських засобів для нашкірного застосування та косметичної продукції з високим вмістом водної фази, білкових та природних ліпідних компонентів і екстрактів (гелі, зволожувальні креми, косметичне молочко та інші) [1, 2]. Разом з тим, такі засоби вимагають застосування значної кількості допоміжних компонентів, зокрема емульгаторів, солюбілізаторів та консервантів, оскільки є сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів, які можуть зумовити гнійничкові захворювання шкіри та слизових оболонок. Тому актуальним є пошук нових ефективних емульгаторів та консервантів для застосування у складі лікарських та косметичних засобів, які б також були не токсичними, не алергенними, тобто безпечними для людини.

Методи дослідження. У роботі використані методи інформаційного пошуку, аналізу даних літератури та маркетингові дослідження.

Результати й обговорення. До складу лікарських та косметичних засобів, крім біологічно активної речовини – основного носія лікувального або косметичного ефекту, входить велика кількість допоміжних речовин, які в комбінації з біологічно активною створюють ефективний та безпечний лікарський або косметичний засіб.

Відповідно до настанови 42-3.1:2004 щодо фармацевтичної розробки, такими ключовими допоміжними компонентами у лікарських засобах для нашкірного застосування є: антимікробні консерванти, антиоксиданти та інші речовини, включно поверхнево-активні речовини (ПАР), розчинники, комплексоутворювачі, речовини, що підвищують проникність, модифікатори вивільнення тощо [3].

Консерванти – це важливі допоміжні компоненти косметичних засобів, які необхідні для їх тривалого зберігання. Основна мета введення консервантів у косметичні засоби – захист від мікробіологічного ураження в процесі зберігання та застосування засобу [4, 5].

Багато консервантів за структурою є ПАР, тому можуть викликати побічні ефекти. Поверхнево-активні речовини часто є алергенами. Крім того, вони взаємодіють з цитоплазматичною мембраною клітини, деполаризуючи її. Це призводить до зміни проникності мембрани для певних речовин та її руйнування. Надходження ПАР у організм залежить від фізико-хімічних властивостей, концентрації та тривалості контакту шкіри з ними [6].

Практично всі ПАР здатні видаляти з поверхні тіла всі жироподібні продукти, зокрема тонку захисну плівку, яку утворюють сальні та потові залози волосся та шкіри [7]. Поверхнево-активні речовини, що традиційно використовуються, також дуже забруднюють навколишнє середовище [6].

Токсична дія консерванту на організм людини залежить, насамперед, від хімічної структури. Інформацію про побічну дію широко застосовуваних консервантів наведено в таблиці 1 [6].

В останні десятиліття активно досліджується новий клас продуктів мікробного синтезу – біогенні поверхнево-активні речовини, так звані біоПАР або біосурфактанти.

БіоПАР – поверхнево-активні речовини, які отримують мікробним синтезом. Вони належать до типових амфіфільних сполук, які знижують поверхневий та міжфазний натяг рідин. Біосурфактанти володіють

Таблиця 1. Побічні ефекти консервантів

Хімічна структура консерванту	Побічна дія	Застереження щодо застосування
Консерванти на основі метилдибромоглутаронітрилу	Викликає алергічні реакції у людей, хворих на екзему. При цьому навіть здорові люди опиняються у групі ризику	Заборонено використання метилдибромоглутаронітрилу у продуктах, які не змиваються, через ризик подразнення шкіри
Консерванти на основі метилхлороізотіазолону (5-хлоро-2-метил-4-ізотіазолін-3-ону) та метилізотіазолону (2-метил-4-ізотіазолін-3-ону)	Можуть викликати подразнення шкіри у чутливих людей. Крім того, консерванти на основі цих сполук інколи проявляють себе як контактні алергени	Не рекомендовано застосовувати продукцію, яка містить метилхлороізотіазолон, людям, схильним до алергії. На продукції, що містить даний консервант, обов'язково повинно бути вказано, що можливе виникнення алергії
Консерванти – донори формальдегіду	Здатні пошкоджувати ДНК, подразнювати очі, верхні дихальні шляхи і слизові оболонки, може викликати астму та біль голови, рак легень	Продукцію, яка містить в своєму складі донори формальдегіду, не можна застосовувати на слизові оболонки очей та дихальних шляхів
Консерванти на основі парабенів	Парабени можуть накопичуватись в онкологічних пухлинах, є ймовірність того, що вони індукують їх утворення. Мають гормональний вплив на жіночу репродуктивну систему. Пропілпарабен негативно діє на репродуктивну функцію організму чоловіків	Рекомендовано чітко дотримання дозволених концентрацій

такими ж фізико-хімічними властивостями, як і синтетичні сурфактанти: для них відомі значення критичної концентрації міцелоутворення (ККМ), гідрофільно-ліпофільного балансу (ГЛБ), поверхневого і міжфазного натягу та інші. Біосурфактанти, для яких величина ГЛБ менше 6, утворюють стабільні емульсії типу «вода в маслі», а при значенні ГЛБ 10–18, – емульсії типу «масло у воді». БіоПАР можуть стабілізувати (емульгатори) і дестабілізувати (деемульгатори) емульсії, а їх здатність до солюбілізації та утворення міцел, зумовлюють активність цих сполук відносно різних біологічних об'єктів [8].

Серед біоПАР найбільш ефективними є рамноліпіди, які синтезуються представника роду *Pseudomonas* і широко поширені в природі, що пов'язано з їх здатністю засвоювати найрізноманітніші за природою субстрати і рости в різних екологічних умовах. Для їх росту придатні дуже різні середовища, починаючи з води очищеної з мінімальним вмістом солей до складних середовищ, що включають речовини тваринного і рослинного походження та похідні нафти. Серед представників роду *Pseudomonas* встановлено види, які витримують високий тиск та солоність середовища [9].

У сучасній літературі встановлено дію рамноліпідів на клітини про- та еукаріотів, їх роль у русі клітин та механізми утворення біоплівки. У науковій літературі описано сім гомологічних рамноліпідів [10]. Всі вони складаються із гідрофільної «голови», яка представ-

лена однією або двома молекулами рамнози, і гідрофобного «хвоста» з одного або двох ланцюгів жирних кислот. Така дифільна будова молекули визначає її поверхнево-активні властивості: емульгування жирів та вуглеводнів, змочування різних поверхонь, зниження поверхневого і міжфазного натягу, вплив на капілярні процеси, підвищення проникності клітинних мембран. Основні характеристики рамноліпідів наведено у таблиці 2 [9, 10].

Таблиця 2. Основні характеристики рамноліпідів

Поверхневий натяг	30-32 мН/м
Емульгуюча активність	10,4-15,5 од/мл фільтрату
Величина ККМ	5-65 мг/л

Завдяки своїй будові молекули і, відповідно, фізико-хімічним властивостям, рамноліпіди мають широке застосування: можуть використовуватися як для отримання нових, так і для вдосконалення існуючих препаратів для сільськогосподарства, косметики та медицини. БіоПАР можуть бути використані як самостійні реагенти, а також для створення комплексних препаратів із покращеними функціональними характеристиками. Із літературних даних можна виділити кілька основних напрямів застосування цих речовин: підвищення нафтовидобутку пластів; поліпшення горючих властивостей високоасфальтенових нафт; стабілізація і дестабілізація емульсій; очистка від нафтових забруднень води і ґрунтів; створення

нових мийних засобів; у сільському господарстві в різних препаратах для захисту рослин від хвороб і шкідників; у медицині (створення ліпосом) та косметичі [11].

БіоПАР у медицині та косметичі на сьогодні практично не застосовуються, але вже є певні позитивні результати, які отримані у різних лабораторіях світу, що дають підстави їх розглядати як заміну синтетичним ПАР. Завдяки широкому спектру біологічних властивостей, а саме антимікробним [10, 12-15], антифунгіцидним [16-18], антивірусним [19], протипухлинним [19, 20] антиадгезивним [21], емульгуючим [22], біоПАР мають перспективи для одержання нових ефективних лікарських та косметичних засобів.

БіоПАР із антимікробними властивостями синтезуються мікроорганізмами-продуцентами для створення більш сприятливих умов для самого продуцента і пригнічення росту інших бактерій. Наприклад, рамноліпіди, манозилеритритолліпіди (МЕЛ) і сурфактини завдяки антибіотичній активності забезпечують перевагу продуцентам у процесі колонізації нового середовища і конкуренції за субстрат з іншими видами [19, 23]. Дослідження процесів синтезу біоПАР дозволяє детальніше зрозуміти таке явище у природі, як активний антагонізм. Прикладом цього явища є високий антимікробний потенціал виділеного ліпопептиду *Brevibacillus brevis* НОВ1 проти штаму *Bacillus licheniformis*, ізольованого разом із продуцентом ПАР з відпрацьованої води нафтового поля [15].

На сьогодні ліпопептидам притаманна найбільш ефективна антимікробна дія (поліпептидні антибіотики). Серед них привертають увагу сурфактин (продуцент *Bacillus subtilis*) [12] і ліхенізин (продуцент *Bacillus licheniformis* BAS50) [24]. Є також дані про антибактеріальну активність ще однієї ПАР N1, продуцентом якої є *Bacillus subtilis* [13]. N1 виявився ефективним проти грам позитивних бактерій, але не виявляв дії щодо грамнегативних бактерій, які мають зовнішню непронику для даних біоПАР мембрану [13].

Ліпопептид *Brevibacillus brevis* НОВ1 виявляв антимікробну дію як щодо грам позитивних (*B. licheniformis*), так і грамнегативних (*E. coli*) бактерій, однак був неефективним проти *S. aureus* [15], який володіє резистентністю до багатьох антибіотиків. Ліпопептид, який синтезує *Bacillus circulans*, у концентрації 500 мкг/мл повністю знищував клітини *S. aureus* [14]. Даний ліпопептид характеризувався широким діапазоном антибактеріальної дії як на грам позитивні, так і на грамнегативні мікроорганізми, і навіть повністю пригнічував ріст таких стійких мікроорганізмів, як *Klebsiella* sp. і *E. coli*.

Також антимікробною активністю володіє рамноліпід, синтезований *P. aeruginosa* AT10, який знищував грамнегативні бактерії, окрім *E. coli* і *Serratia marcescens* [10]. Штам *P. putida* PCL1445 синтезує речовину ліпопептидної природи (путисолвін), що

пригнічує утворення біоплівки і призводить до деградації вже існуючих біоплівки як власних, так й інших псевдомонад, у тому числі й умовно патогенних для людини [25].

Мікробні ПАР здатні синергічно посилювати дію антибіотиків на патогенні мікроорганізми [18]. Спільне використання ефірних олій, яким притаманна антимікробна дія, а також біоПАР дозволяє зменшити концентрацію консервантів у косметичних засобах [26]. У літературі розглядають такі механізми синергічного впливу: порушення функції клітинної стінки мікроорганізмів внаслідок зв'язування пептидоглікану; вплив на мембрани бактерій (порушення цілісності, зміна співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот, порушення функції ферментних систем); дія на синтез екзогенних протеїнів, які відіграють важливу роль у резистентності патогенних мікроорганізмів [26, 27].

Також відомо, що рамноліпід штаму *P. aeruginosa* AT10 проявляє антифунгіцидну дію – активно пригнічує ріст *Aerobaculum pullulans*, *A. niger*, *Chaetium globosum*, *Gliocadium virens*, *Penicillium crysogenum*, *Penicillium funiculosum*, *B. cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *R. solani* [10].

Інший гліколіпід флокүлозин [18] штаму *P. flocculosa* у концентрації 50 мкг/мл діяв на *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae*, *S. cerevisiae*, *Trichosporon asahii* за рН 5,0. При сумісному використанні флокүлозину та антибіотика амфотерицину В (АМВ) антимікробна дія посилювалась за рН 7. Підсилення дії за сумісного додавання біоПАР і антибіотика спостерігалось навіть при низьких концентраціях АМВ – 0,005 мкг/мл, що дає можливість створити ефективні ЛЗ із меншою кількістю антибіотика, який є досить токсичним. Невелика кількість флокүлозину достатня для порушення структури мембрани дріжджів і полегшення проникнення АМВ у клітини, де він зв'язується з ергостеролом і спричиняє загибель клітин. Разом з тим, слід зазначити, що рамноліпід, який належить до гліколіпідів, не проявляв дії на *C. albicans*, *S. cerevisiae* і *Rhodotorula rubra* [10].

Біогенні ПАР проявляють також антивірусну активність. Відомо, що сурфактин діє на широкий діапазон вірусів: вірус лісу Семліки (збудник лихоманки), вірус звичайного герпесу (HSV), віруси герпесу свиней, везикулярного стоматиту, вірус імунодефіциту мавп, вірус кальцивірозу кишків та енцефаломіокардиту мишей [19]. Аналог сурфактину – пумілацидин – проявляє антивірусну дію щодо звичайного вірусу герпесу 1 (HSV-1) [10]. Механізм протівірусної дії вивчений лише для сурфактину. Показано, що цей ліпопептид є ефективнішим проти вірусів, що мають оболонку (ретровіруси, віруси герпесу), ніж проти безоболонкових вірусів. Таке явище зумовлено тим, що саме механізм дії біоПАР пов'язаний із взаємодією його молекул із зовнішньою оболонкою вірусів і утворенням у ній каналів із подальшою дезінтеграцією [19].

Також встановлено, що рамноліпіди штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 [28] та трегалозоліпіди штаму *G.rubripertincta* УКМ Ас-122 проявляють активність проти штаму «Дніпровський-34» тешовірусу свиней [29].

Таким чином, у світі спостерігається зростання інтересу до вивчення впливу біоПАР на клітини людини і тварин. Біологічна активність біоПАР створює перспективи розробки як нових ліків із високою ефективністю і меншою токсичністю, так і отримання нових косметичних засобів із безпечною дією. Завдяки тому, що біогенні ПАР можуть виконувати функції різних допоміжних речовин: антимікробних консер-

вантів, антиоксидантів та інших, які забезпечують диспергування, суспендування, загущення, емульгування, змочування і розчинність діючих речовин та стабілізацію рН, вони можуть у майбутньому замінити синтетичні ПАР, які досить часто є алергенними та токсичними.

Висновки. Різноманітність фізико-хімічних та біологічних властивостей біоПАР визначає перспективу їх дослідження як безпечних для людини емульгаторів, стабілізаторів та консервантів у складі як косметичних засобів, так і м'яких та рідких лікарських засобів.

Список літератури

1. Walters Y. Dermatologic, cosmeceutic and cosmetic development / Edit. Y.Walters. – 2008. – 644 p.
2. Walters K. Dermatological and transdermal formulations / Edited by Kenneth A.Walters. – NewYork-London. – 2007. – 565 p.
3. Настанова 42-3.1:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка. – Київ, 2004. – 15 с.
4. Практикум з технології лікарських косметичних засобів / Т. Г. Калинюк, Є. В. Бокшан, С. Б. Білоус та ін. – К. : Медицина, 2008. – 184 с.
5. Технологія косметичних засобів: навч. посіб. для студ. фармац. спец. вищ. навч. заклад / О. Г. Башура, Н. П. Половко, Т. М. Ковальова та ін. – Вінниця : Нова книга, 2007. – 360 с.
6. Токсикологічна хімія харчових продуктів та косметичних засобів / С. А. Воронов, Ю. Б. Стецишин, Ю. В. Панченко, В. П. Васильєв – Л. : Видавництво Львівської політехніки, 2010. – 316 с.
7. Дмитрук С. И. Фармацевтическая и медицинская косметология: учеб. – Томск : Изд-во НТЛ, 2005. – 180 с.
8. Parkinson M. Biosurfactants / M. Parkinson // *Biotech. Adv.* – 1985. - Vol.3. - P.65-83.
9. Sim L. Production and characterization of a biosurfactant isolated from *Pseudomonas aeruginosa* UW-1 / L. Sim, O.P. Ward, Zy. Li // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* – 1997. – Vol. 19. – P. 232-238.
10. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes / A. Abalos, A. Pinazo, M. R. Infante [et al.] // *Langmuir.* – 2001. – Vol. 17, № 5. – P. 1367–1371.
11. Microbial biosurfactants production, applications and future potential / I. M. Banat, I. Franzetti, A. Gandolfi [et al.] // *Applied Microbiology and Biotechnology.* – 2010. – Vol. 87. – P.427–444.
12. Interference in adhesion of bacteria and yeasts isolated from explanted voice prostheses to silicone rubber by rhamnolipid biosurfactants / L. R. Rodrigues, I. M. Banat, H. C. van der Mei [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* – 2006. – Vol. 100, N 3. – P. 470–480.
13. Singh P. Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences / P. Singh, S. Cameotra // *Trend. Biotechnol.* – 2004. – Vol. 22, No. 3. – P. 142–146.
14. Das P. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans* / P. Das, S. Mukherjee, R. Sen // *J. Appl. Microbiol.* – 2008. – Vol. 104, No. 6. – P. 1675–1684.
15. Haddad N. I. Isolation and characterization of a biosurfactant producing strain, *Brevibacillus brevis* HOB1 / N. I. Haddad, J. Wang, B. Mu // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 35, No. 12. – P. 1597–1604.
16. Joshi S. Production of biosurfactant and antifungal compound by fermented food isolate *Bacillus subtilis* 20B / S. Joshi, C. Bharucha, A. J. Desai // *Bioresour. Technol.* – 2008. – Vol. 99, No. 11. – P.4603–4608.
17. Grover M. Molecular and biochemical approaches for characterization of antifungal trait of a potent biocontrol agent *Bacillus subtilis* RP24 / M. Grover, L. Nain, S. B. Singh [et al.] // *Curr. Microbiol.* – 2010. – Vol. 60, No. 2. – P. 99–106.
18. Mimee B. Antifungal activity of flocculosin, a novel glycolipid isolated from *Pseudozyma flocculosa* / B. Mimee, C. Labbe, R. Pelletier [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, No. 4. – P. 1597–1599.
19. Rodrigues L. Biosurfactants: potential applications in medicine / L. Rodrigues, I. M. Banat, J. Teixeira, R. Oliveira [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2006. – Vol. 57, No. 4. – P. 609–618.
20. Saini H. Efficient purification of the biosurfactant viscosin from *Pseudomonas libanensis* strain M9-3 and its physicochemical and biological properties / H. Saini, B. Barragan-Huerta, A. Lebroan-Paler // *J. Nat. Prod.* – 2008. – Vol. 71, No. 6. – P.1011–1015.
21. Rodrigues L. R. Influence of biosurfactants from probiotic bacteria on formation of biofilms on voice prostheses / L. R. Rodrigues, H. C. van der Mei, J. Teixeira [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 70, No. 7. – P. 4408–4410.
22. Lee S. Isolation and structural analysis of bamylocin A, novel lipopeptide from *Bacillus amyloliquefaciens* LP03 having antagonistic and crude oil-emulsifying activity / S. Lee, S. Kim, S. Chung [et al.] // *Arch. Microbiol.* – 2007. – Vol. 188, N 4. – P. 307–312.
23. Arutchelvi J. I. Mannosylerythritol lipids: a review / J. I. Arutchelvi, S. Bhaduri, P. V. Uppara [et al.] // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 35, No. 12. – P. 1559–1570.
24. Characterization of a new lipopeptide surfactant pro-

duced by thermotolerant and halotolerant subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50 / M. Yakimov, K. Timmis, V. Wray [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – Vol. 61, No. 5. – P. 1706–1713.

25. Dubern J. F. Regulation of the biosynthesis of novel cyclic lipopeptides from *Pseudomonas putida* strain PCL1445: Ph. D thesis. - ISBN: 90-9020584-5. - Ridderkerk, The Netherlands, 2006. – 174 p.

26. Patrone V. In vitro synergistic activities of essential oils and surfactants in combination with cosmetic preservatives against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* / V. Patrone, R. Campana, E. Vittoria [et al.] // *Ibid.* –

2010. – Vol. 60, No. 4. – P. 237–241.

27. Cho Y. S. Antibacterial effects of green tea polyphenols on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / Y. S. Cho, N. L. Schiller, K. H. Oh // *Ibid.* – 2008. – Vol. 57, No. 6. — P. 542–546.

28. Бова Т.О. Скринінг речовин мікробного походження з антивірусною активністю in vitro / Т. О. Бова // *Біологія тварин.* – 2010. – Т. 12, № 2. – P. 503–507.

29. Антивірусна активність біосурфактанту культури *Gordonia rubripertincta* УКМ Ас-122 / О. В. Карпенко, Т. О. Бова, М. В. Пристай [та ін.] // *Сільськогосподарська мікробіологія.* – 2011. – Вип. 13. – С. 164–170.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В СОСТАВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

И. Р. Пелех¹, С. Б. Билоус¹, Р. И. Вильданова², А. Н. Шульга²

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого¹

Отделение физико-химии горючих ископаемых Института физико-органической химии и углекислоты имени Л. М. Литвиненка НАН Украины², Львов

Резюме: в статье обобщены данные литературы о поверхностно-активных веществах, которые получают микробным синтезом. Разнообразие физико-химических и биологических свойств биогенных поверхностно-активных веществ определяет перспективу их исследования как безопасных для человека эмульгаторов, стабилизаторов и консервантов в составе лекарственных и косметических средств.

Ключевые слова: поверхностно-активные вещества, биоПАР, лекарственные средства, косметические средства, антимикробная активность, консерванты.

PROSPECTS OF SURFACTANTS OF MICROBIAL ORIGIN IN THE MEDICINAL AND COSMETIC PRODUCTS

I. R. Pelekh¹, S. B. Bilous¹, R. I. Vildanova², O. M. Shulha²

¹Danylo Halytskyi Lviv National Medical University

²Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels InPOCC, NAS of Ukraine, Lviv

Summary: the article summarizes literature data concerning surfactants obtained by microbial synthesis. A variety of physical, chemical and biological properties of biogenic surfactants determines the prospects of their research as safe for human emulsifiers, stabilizers and preservatives in compositions of medicinal and cosmetic products.

Key words: surfactants, medicines, cosmetics, antimicrobial activity, preservatives.

Отримано 03.02.2016