

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE TOXICOLOGICAL PROPERTIES OF AMPHOTERIC SURFACTANTS

Yalovenko O.I., Golichenkov O.M., Rayetska O.V., Lyashenko V.I., Maistrenko Z.Yu., Umanets H.P., Kucherenko O.Yu., Babiy V.F., Kondratenko O.Ye., Pimushyna M.V., Vinarska O.I., Hryhorenko L.Ye., Moldavska N.B., Tomashevskaya L.A., Didyk N.V., Lemeshko L.P.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АМФОТЕРНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

В останні роки дерматологи відзначають зростання кількості випадків виявлення підвищеної чутливості споживачів до засобів для очищення шкіри та волосся, проте відмовитись від їх застосування нині неможливо. Косметичні очищувачі необхідні для гігієнічного догляду за шкірою (видалення бруду, мікроорганізмів, корнеоцитів, надлишків ліпідів шкіри, поту), але побічною реакцією їхньої дії стає порушення трансепідермального бар'єру. Пошкодження шкіри виникає через спровоковані поверхнево-активними речовинами (ПАР) руйнівні процеси: денагурацію білка, емульгування ліпідів, запальний процес в епідермісі, що стає причиною розвитку сухості шкіри, а у найбільш важких випадках — контактного дерматиту та/або сенсibilізації [1-3]. Для вирішення проблем, що виникають, науковці проводять пошук і постійно оновлюють спектр

ЯЛОВЕНКО О.І., ГОЛІЧЕНКОВ О.М., РАЄЦЬКА О.В., ЛЯШЕНКО В.І., МАЙСТРЕНКО З.Ю., УМАНЕЦЬ Г.П., КУЧЕРЕНКО О.Ю., БАБІЙ В.Ф., КОНДРАТЕНКО О.Є., ПІМУШИНА М.В., ВІНАРСЬКА О.І., ГРИГОРЕНКО Л.Є., МОЛДАВСЬКА Н.Б., ТОМАШЕВСЬКА Л.А., ДІДИК Н.В., ЛЕМЕШКО Л.П.
ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзеева Національної академії медичних наук України», м. Київ
УДК 543.395 : 661.185.3 : 615.9

Ключові слова: амфотерні ПАВ, *in vitro*, *in vivo* методи, цитотоксичність, імунотоксичність, резорбтивна дія, сенсibilізація.

сурфактантів, які використовуються у косметичних засобах, намагаються вводити у рецептуру очищувачів більш «м'які» нові ПАР, навіть зовсім інших груп сурфактантів. Іноді поглиблені дослідження їхніх токсикологічних властивостей та епідеміологічні дані спростовують прогнозований позитивний вплив цих інгредієнтів на пом'якшення рецептур багатоконпонентних засобів [3].

Метою нашої роботи було проведення порівняльних досліджень токсикологічних властивостей різних амфотерних ПАР для прогнозування їхнього шкідливого впливу при використанні у складі косметичного очищувача.

Матеріали досліджень – амфотерні ПАР (Амф.ПАР): динатрій кокоамфодіацетат, алкілдиметилбетаїн, кокамідопропілбетаїн, натрієва сіль *n*-пальметилглутамінат кислоти. Об'єкти досліджень — білі щури, морські свинки, суспен-

не интегральных показателей токсичности, изучение трансдермального воздействия ПАВ на морских свинок на протяжении 4-х месяцев с оценкой гематологических, иммунологических и биохимических показателей крови.

Результаты исследований и выводы. В работе экспериментально доказано, что все исследованные Амф.ПАВ обладают цитотоксическими и кожно-резорбтивными свойствами разной степени. Установлено, что иммунотоксическое действие (супрессия и сенсibilізація) является характерной особенностью биологического действия Амф.ПАВ при их трансдермальном воздействии. Наиболее токсичным был кокамидопропилбетаин, единственный из исследованных Амф.ПАВ, вызывающий развитие гиперчувствительности немедленного и замедленного типов. Наиболее безопасные — натриевая соль *n*-пальметилглутаминовой кислоты, динатрия кокоамфодіацетат, резорбтивное действие которых подтверждено только иммунотоксическим действием.

Ключевые слова: амфотерные ПАВ, *in vitro*, *in vivo* методы, цитотоксичность, иммунотоксичность, резорбтивное действие, сенсibilізація.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АМФОТЕРНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Яловенко Е.И., Голиченков А.М., Раецкая Е.В., Ляшенко В.И., Майстренко З.Ю., Уманец Г.П., Кучеренко О.Ю., Бабий В.Ф., Кондратенко Е.Е., Пимушина М.В., Винарская Е.И., Григоренко Л.Е., Молдавская Н.Б., Томашевская Л.А., Дидык Н.В., Лемешко Л.П.

ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Цель работы: проведение сравнительных исследований токсикологических свойств различных амфотерных поверхностно-активных веществ (Амф.ПАВ) для прогнозирования их вредного действия при использовании в составе косметического очистителя.

Материалы и методы исследований. В работе исследовано 4 Амф.ПАВ: динатрий кокоамфодіацетат, алкілдиметилбетаин, кокамідопропілбетаин, натрієва сіль *n*-пальметилглутаминовой кислоты. Исследования проводили методами *in vitro* оценки цитотоксичности и классическими токсикологическими: определе-

Ключевые слова: амфотерные ПАВ, *in vitro*, *in vivo* методы, цитотоксичность, иммунотоксичность, резорбтивное действие, сенсibilізація.

© Яловенко О.І., Голіченков О.М., Раєцька О.В., Ляшенко В.І., Майстренко З.Ю., Уманець Г.П., Кучеренко О.Ю., Бабій В.Ф., Кондратенко О.Є., Пімушина М.В., Вінарска О.І., Григоренко Л.Є., Молдавська Н.Б., Томашевська Л.А., Дідик Н.В., Лемешко Л.П. СТАТТЯ, 2016.

№ 3 2016 ENVIRONMENT & HEALTH 4

зійні короткотривалі культури еритроцитів морських свинок та сперматозоїдів бика.

Методи досліджень. Оцінку токсикологічних властивостей Амф.ПАР проводили відповідно до сучасних вимог біоетики з використанням методів *in vitro* та *in vivo*. При плануванні і постановці експериментів враховували найбільш токсичні ефекти, характерні для ПАР, за літературними джерелами, дози і шлях надходження до організму [2]. Обрані методи досліджень Амф.ПАР включали

□ скринінгові дослідження цитотоксичної дії за двома методами *in vitro* з використанням суспензійних культур сперматозоїдів та еритроцитів згідно з [4-6];

□ визначення гострої токсичності при введенні у шлунок і нанесенні на шкіру та дослідження біологічної дії засобів у концентрації 5% за епікутанного надходження до організму протягом 3 місяців за показниками: гематологічними (вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарна формула крові: відсотковий вміст лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів, сегментоядерних і паличкоядерних нейтрофілів), біохімічними (вміст глюкози, холестерину, білка, сечовини, креатиніну, альбуміну, активності амілази, лужної фосфатази та



ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

амінотрансфераз: аланінаміно-трансферази (АЛТ), аспартатаміно-трансферази (АСТ); імунологічними (відсотковий вміст та абсолютна кількість Т-, В-лімфоцитів і фагоцитуючих клітин, відсоток дегранульованих базофілів (за Шеллі), індекс гальмування розпластування макрофагів, концентрація циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), осаджених розчином поліетиленгліколю 6000). Загальний термін виконання досліджень – 4 місяці. Більш детально методи досліджень та схема експерименту викладені у [7].

Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію t-Ст'юдента за програмою «Statistica 7.0 for Windows». Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати досліджень. Обрані для досліджень ПАР

належать до амфотерних сурфактантів. Амф.ПАР можуть проявляти властивості аніонних, цвіттеріонних і катіонних ПАР залежно від рН розчину. Представники цієї групи мають добрі піноутворюючі та мийні характеристики, помірні антимікробні властивості, їх вважають менш агресивними, ніж аніонні ПАР (АПАР), тому використовують у комбінації з останніми, щоб зменшити подразнювальний ефект готового засобу. Завдяки зазначеним характеристикам та помірній вартості Амф.ПАР стали екстенсивно використовувати в очищувальних косметичних засобах, засобах для гоління, зубних пастах, пральних порошках. До найбільш популярних Амф.ПАР належать кокамідопропілбетаїни, кокоамфоацетати та кокоамфодіацетати, які у комплексі з

Таблиця 1

Динаміка змін гематологічних, біохімічних та імунологічних показників крові морських свинок під впливом епікутанної дії 5% водного розчину кокамідопропілбетаїну на морських свинок (n = 6)

Показник, одиниці виміру / умовні позначення	Значення показників протягом терміну спостереження (M ± m дослід, t / M ± m контроль)		
	За 30 днів аплікацій	За 90 днів аплікацій	За місяць після аплікацій
Т-лімфоцити, %	21,17 ± 0,60*, 4,02 / 27,00 ± 1,32	24,17 ± 0,87*, 2,76 / 27,67 ± 0,92	24,67 ± 0,49*, 4,92 / 28,33 ± 0,56
Кількість фагоцитуючих клітин (ФАГ), %	70,67 ± 0,67*, 8,30 / 79,33 ± 0,80	70,17 ± 0,87*, 5,85 / 77,83 ± 0,98	71,50 ± 1,48*, 5,07 / 80,33 ± 0,92
Індекс гальмування розпластування макрофагів (ІГ), ум.од.	1,03	0,78**	0,63**
Концентрація циркулюючих імунних комплексів (ПЕГ 3%) (ЦІК), од. екстинкції	53,00 ± 6,34*, 2,49 / 76,00 ± 6,72	65,00 ± 4,83* 7,68 / 118,00 ± 4,93	165,00 ± 3,65*, 4,75 / 117,67 ± 9,28
Відсоток дегрануляції базофілів, % / тв. — тварини	2 тв. — 12,00 ± 0,00***, 4 тв. — 6,00 ± 1,15,	2 тв. — 12,00 ± 0,00***, 4 тв. — 7,00 ± 2,00,	2 тв. — 13,33 ± 1,33***, 4 тв. — 6,67 ± 1,33
Вміст еозинофілів****, %	50% тварин групи >5%	33% тварин групи >5%	33% тварин групи >5%
Альбумін, мг/дл/	2,6 ± 0,19 * 2,53 / 3,3 ± 0,21	3,2 ± 0,27 0,61 / 3,42 ± 0,27	3,03 ± 0,11 0,77 / 3,13 ± 0,07
Амілаза, U/l/	1486,33 ± 48,79*, 2,42 / 1339,17 ± 36,41	1377,45 ± 80,37, 1,31 / 1252,40 ± 44,72	1386,00 ± 60,28, 1,02 / 1301,80 ± 62,52
Глюкоза, ммоль/л/	7,33 ± 0,31 1,36 / 6,55 ± 0,46	7,51 ± 0,36 * 2,69 / 6,24 ± 0,33	7,15 ± 0,26* 2,65 / 6,25 ± 0,24

Примітки: * — достовірні зміни показників ($p < 0,05$); ** — ІГ < 0,8 — реакція позитивна;

*** — відсоток дегрануляції базофілів більше 10% — позитивна реакція;

**** — вміст еозинофілів до 5% — фізіологічна норма.

неіонними ПАР почали практично заміщати АПАР з рецептур косметичних засобів. Але останнім часом експериментально доведено, що ступінь вираженості цитотоксичної дії у деяких Амф.ПАР сильніший, ніж в АПАР, накопичуються дані про виявлення сенсibiliзуючого потенціалу при використанні засобів на основі Амф.ПАР [2, 3], тому сплановані нами дослідження були проведені для порівняння токсикологічних характеристик різних Амф.ПАР з метою визначення найбільш безпечних з них.

Найпоширенішою Амф.ПАР є кокамідопропілбетаїн. Вона впроваджується у косметичні засоби з 1970 року як ПАР, що має слабкий подразнюючий потенціал, навіть рекомендується для застосування в очищувальних засобах дитячої групи [2]. Кокамідопропілбетаїн належить до 3 класу небезпеки відповідно до вимог ГОСТ 12.1.007 (ЛД₅₀ per os 3200 (2770 ÷ 3630) мг/кг, ЛД₅₀ per cut >2500 мг/кг) [8]. В *in vitro* дослідженнях цитотоксичної дії він проявив сильну токсичну дію на еукаріотичні клітини (Kc — 0,27 умов. од., H₅₀ — 0,00100 умов. од., Its 0,02-36,7 умов. од.), що підтверджує дані про потужні цитотоксичні властивості, отримані дослідниками іншими методами [6]. Щоденна оцінка протягом 4-місячного експерименту впливу 5% розчину кокамідопропілбетаїну показала відсутність у нього

шкірно-подразнювальних властивостей, але виявила помітні резорбтивні властивості, встановлені при аналізі результатів гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень. Виявлені протягом експерименту достовірні зміни гематологічних, біохімічних та імунологічних показників представлені у таблиці 1. Звертаємо увагу, що в усіх таблицях, наведених у цій статті, зазначено динаміку змін виключно тих показників, які показали достовірні відмінності ($p < 0,05$) хоча б в один з вказаних термінів спостереження.

Як видно з таблиці, під впливом розчину кокамідопропілбетаїну із гематологічних показників зазнали змін еозинофіли: відзначено збільшення ($p < 0,05$) їх вмісту у дослідних тварин (за 30 діб — у 50% тварин у групі, за 90 діб — у 33%), яке трималося на зазначеному рівні і після аплікації, що може свідчити про дестабілізацію функціонального стану крові. У групі експонованих тварин вплив розчину зазначеної Амф.ПАР призводить до певних зсувів окремих біохімічних показників крові: на 30-ту добу спостерігалось зростання активності амілази та зниження рівня вмісту альбуміну порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 90-ту добу та за 30 діб після припинення впливу досліджуваного ПАР збільшувався вміст глюкози ($p < 0,05$). Отримані результати змін біохімічних показників

внаслідок впливу кокамідопропілбетаїну свідчать про можливі порушення метаболічних процесів залежно від часу дії. Так, збільшення вмісту глюкози протягом майже усього експерименту на фоні зростання активності амілази може бути пов'язане з порушенням функцій клітин підшлункової залози, яке сприяє проникненню глюкози у клітину, у свою чергу, призводить до збільшення вмісту глюкози у крові.

Відзначено суттєві зміни і деяких імунологічних показників: стабільне пригнічення клітинної ланки імунітету (достовірне зменшення Т-лімфоцитів) та неспецифічних факторів захисту організму, адаптаційні різнонаправлені коливання концентрації циркулюючих імунних комплексів протягом усього терміну спостереження ($p < 0,05$), розвиток гіперчутливості негайного типу: слабкопозитивна реакція за Шеллі у 33% тварин дослідної групи (відсоток дегранульованих базофілів — 12-13%), яка трималась протягом усього експерименту, у тому числі і після закінчення відновлювального періоду. За подовженого терміну дії до 90 діб до виявлених змін приєднується розвиток гіперчутливості сповільненого типу. Зміни мають стабільний характер та зберігаються після відновлювального періоду. Деякі вчені вважають, що саме кокамідопропілбетаїн відповідальний за випадки алергічних реакцій при застосуванні шампунів на основі цієї ПАР. Його сенсibiliзуючий ефект показано у публікаціях останніх років [2, 3], і у наших дослідженнях сенсibiliзація організму підтверджена виявленням гіперчутливості сповільненого та негайного типів. Ступінь вираженості виявлених ефектів, їхня стійкість протягом терміну спостереження, кількість достовірних змін показників свідчать про те, що за цитотоксичною, резорбтивною та імунотоксичною діями кокамідопропілбетаїну належить до високотоксичних ПАР згідно з запропонованим нами розподілом сурфактантів на групи, викладеним у [7].

Друга з обраних для досліджень Афм.ПАР є алкілдиметилбетаїн. За хімічною будовою вона належить до похідних бетаїну, як і кокамідопропілбетаїн. За параметрами гострої токсичності при введенні у шлу-

Таблиця 2

Динаміка змін гематологічних, біохімічних та імунологічних показників крові морських свинок під впливом епікутанної дії 5% водного розчину алкілдиметилбетаїну на морських свинок (n = 6)

Показник, одиниці виміру/ умовні позначення	Значення показників протягом терміну спостереження (M ± m дослід, t / M ± m контроль)		
	За 30 діб аплікацій	За 90 діб аплікацій	За місяць після аплікацій
Т-лімфоцити, %	24,83 ± 0,91, 1,35/27,00 ± 1,32	21,67 ± 0,71*, 5,16/27,67 ± 0,92	22,83 ± 0,4*, 7,46/28,33 ± 0,56
В-лімфоцити, %	22,67 ± 0,71, 0,88/24,17 ± 1,56	19,33 ± 0,49*, 3,67/ 22,17 ± 0,60	19,67 ± 0,56*, 4,65/24,17 ± 0,79
Кількість фагоцитуючих клітин (ФАГ), %	69,17 ± 1,33*, 6,55/79,33 ± 0,80	66,50 ± 4,08*, 2,70/77,83 ± 0,98	70,50 ± 1,23*, 6,40/80,33 ± 0,92
Індекс гальмування розпластування макрофагів (ІГ), умов. од.	0,94	0,75**	0,61**
Глюкоза, ммоль/л/	7,84 ± 0,32*, 2,25/6,55 ± 0,46	7,33 ± 0,38*, 2,23/6,24 ± 0,33	7,13 ± 0,41, 1,80/6,25 ± 0,24

Примітки до таблиць 2-4: * — достовірні зміни показників ($p < 0,05$); ** — ІГ < 0,8 — реакція позитивна.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE TOXICOLOGICAL PROPERTIES OF AMPHOTERIC SURFACTANTS
Yalovenko O.I., Golichenkov O.M., Rayetska O.V., Lyashenko V.I., Maistrenko Z.Yu., Umanets H.P., Kucherenko O.Yu., Babiy V.F., Kondratenko O.Ye., Pimushyna M.V., Vinarska O.I., Hryhorenko L.Ye., Moldavska N.B., Tomashevskaya L.A., Didyk N.V., Lemeshko L.P.

State Institution «O.M. Marzeiev Institute for Public Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Objective. We performed a comparative study of the toxicological properties of different amphoteric surfactants for the prognostication of their harmful effect at the use of a cosmetic cleanser in the composition.

Materials and methods. Four amphoteric surfactants: Cocamidopropyl Betaine, Coco-betain, Cocamidopropyl Betaine, Sodium Cocoyl Glutamate were studied in the work. Research was performed by the method of the in vitro assessment of cytotoxicity;

city; classic toxicological method of the determination of toxicity integral indices; study of transdermal effect of the surfactants on guinea-pigs during 4 months with the assessment of hematological, immunological and biochemical indices of blood.

Results and conclusions. We experimentally proved that all studied amphoteric surfactants had cytotoxic and dermaresorptive properties of different degrees. Immunotoxic effect (suppression and sensibilization) was determined to be a characteristic feature of the biological effect of the amphoteric surfactants at their transdermal effect. Cocamidopropyl Betaine was the most toxic, it is a single among studied amphoteric surfactants to cause a development of hypersensitivity of immediate and delayed types. Cocamidopropyl Betaine and Sodium Cocoyl Glutamate are the most safe. Their resorptive effect was proved by immunotoxic effect only

Keywords: amphoteric surfactants, in vitro, in vivo methods, cytotoxic, immunotoxic, absorption, sensitization.

нок та нанесенні на шкіру ця ПАР теж належить до 3 класу небезпеки згідно з ГОСТ 12.1.007 (ЛД₅₀ per os 1350 (1243 ÷ 1457) мг/кг, ЛД₅₀ per cut >2500 мг/кг), але рівень пероральної токсичності значно вищий, ніж у кокамідопропілбетаїну [8]. За ступенем прояву цитотоксичної дії (Кс — 1,07 умов. од., Н₅₀ — 0,00299 умов. од., Ітс 0,02–18,0 умов. од.) алкілдиметилбетаїн показує порівняно з кокамідопропілбетаїном приблизно однаковий високий рівень токсичності [6]. Необхідно відзначити, що у проведених дослідженнях модель рухливих сперматозоїдів виявлялася чутливішою до дії цієї ПАР, ніж еритроцити у суспензійній культурі порівняно з впливом кокамідопропілбетаїну. Експериментально показано, що 5% водний розчин алкілдиметилбетаїну не спричиняє шкірно-подразнюючої дії протягом багаторазових аплікацій. У тривалих дослідженнях резорбтивної дії розчину алкілдиметилбетаїну не виявлено його негативної дії на гематологічні показники, достовірні відмінності біохімічних показників стосувалися лише вуглеводного обміну: достовірне зростання рівня глюкози протягом аплікацій (р<0,05 за 30 та 90 діб) та відновлення у період післядії (табл. 2). Водночас імунна система організму була більш чутливою, ніж інші до аплікацій розчином алкілдиметилбетаїну протягом 3-х місяців. Так, дія алкілдиметилбетаїну характеризувалася пригніченням імунного статусу дослідних тварин,

що проявлялося супресією Т- і В-ланок імунітету наприкінці аплікацій, яка зберігалася і протягом відновлювального періоду і визначалася на фоні пригнічення фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів протягом усього експерименту. Сенсibiliзація організму була підтверджена зниженням індексу гальмування розпластування макрофагів за 90 діб та підтримкою цієї тенденції у період післядії, що свідчить про розвиток гіперчутливості сповільненого типу. Усі набуті зміни за 90 діб (р<0,05) зберігаються й у відновлювальний період, тобто вони мають стабільний характер. Враховуючи високий рівень пероральної токсично-

сті, ступінь прояву цитотоксичності та стабільність розвитку імунотоксичних ефектів протягом терміну спостереження, алкілдиметилбетаїн можна віднести до групи високотоксичних ПАР [7].

Наступна Амф.ПАР — динатрій кокамідодіацетату. Амфодіацетати і кокамідодіацетати позиціонуються на ринку як дуже «м'які» ПАР з низьким подразнювальним потенціалом, що дозволяє їх використовувати навіть у концентраціях до 50% [2]. При визначенні інтегральних показників (гострої токсичності при введенні у шлунок та нанесенні на шкіру) встановлено, що динатрій кокамідодіацетат належить до

Таблиця 3
Динаміка змін гематологічних, біохімічних та імунологічних показників крові морських свинок під впливом епікутанної дії 5% водного розчину динатрій кокамідодіацетату на морських свинок (n = 6)

Показник, одиниці виміру/умовні позначення	Значення показників протягом терміну спостереження (M ± m дослід, t / M ± m контроль)		
	За 30 діб аплікацій	За 90 діб аплікацій	За місяць після аплікацій
Т-лімфоцити, %	23,33 ± 0,61*, 2,52/27,00 ± 1,32	23,50 ± 0,85*, 3,33/27,67 ± 0,92	22,20 ± 1,07*, 5,08/28,33 ± 0,56
В-лімфоцити, %	20,83 ± 0,65, 1,98/24,17 ± 1,56	19,50 ± 0,56*, 3,25/22,17 ± 0,60	18,60 ± 1,03*, 4,29/24,17 ± 0,79
Кількість фагоцитуючих клітин (ФАГ), %	69,17 ± 1,78*, 5,21/79,33 ± 0,80	77,17 ± 1,40, 0,39/77,83 ± 0,98	69,60 ± 0,51*, 10,20/80,33 ± 0,92
Індекс гальмування розпластування макрофагів (ІГ), умов.од.	0,96	0,73**	0,56**
Амілаза, U/l	1494,00 ± 47,90*, 2,58/1339,17 ± 36,41	1377,78 ± 51,26, 1,89/1252,40 ± 44,72	1384,00 ± 67,60, 0,93/1301,80 ± 62,52
Глюкоза, ммоль/л	7,70 ± 0,30, 2,03/6,55 ± 0,46	7,21 ± 0,41, 1,87/6,24 ± 0,33	7,37 ± 0,38*, 2,43/6,25 ± 0,24

3 класу небезпечності згідно з ГОСТ 12.1.007 (ЛД₅₀ *per os* 3500 (3140 ÷ 3860) мг/кг, ЛД₅₀ *per cut* >2500 мг/кг), шкірно-подразнювальна дія не виявляється за впливом багаторазових аплікацій його 5% водного розчину, тобто за цими показниками він має рівень токсичності, аналогічний кокамідпропілбетаїну. Водночас в *in vitro* дослідженнях цитотоксичної дії виявлена помірна токсичність для еукариотичних клітин (K_c — 1,99 умов. од., H₅₀ — 0,00237 умов. од., I_{ts} 0,02-59,3 умов. од.) порівняно з кокамідпропілбетаїном та алкілдиметилбетаїном [6].

Під впливом 5% водного розчину динатрій кокоамфодіацетату достовірних змін гематологічних показників не виявлено, коливання біохімічних показників (зростання активності амілази (p<0,05 за 30 діб) були несуттєвими і мали транзиторийний характер, тобто резорбтивну дію було встановлено виключно за імунотоксичною дією (табл. 3). Вплив на імунну систему організму характеризується супресією Т- і В-ланок імунітету (за 90 діб та у період післядії, p<0,05), нестабільним пригніченням неспецифічних факторів захисту організму (за 30 діб та у період післядії, p<0,05), розвитком реакції гіперчутливості сповільненого типу — зниження індексу гальмування розпластування макрофагів від 0,96 (за 90 діб) до 0,56 умов.од. (у період після-

дії), тобто розлади імунної системи виявлено у різні терміни спостереження (табл. 3). За рівнем пероральної токсичності, помірним ступенем цитотоксичної дії, враховуючи відсутність впливу на гематологічні та біохімічні показники крові та наявність імунотоксичної дії (супресії та сенсibilізації), динатрій кокоамфодіацетату належить до групи ПАР середньої токсичності [7].

Остання з досліджених ПАР — натрієва сіль n-пальметилглутамінової кислоти. Достатньо нова Амф.ПАР, яка виробляється із рослинної сировини. Виробники рекламують її як інгредієнт, який має антиоксидантні властивості, пом'якшує шкіру та знижує її гіперчутливість через збереження цілісності ліпідного шару та підтримку рівня рН, дбайливо очищає шкіру, має легкі антибактеріальні властивості, попереджає пересушування шкіри за рахунок вмісту залишків глутамінової кислоти [9]. Проведені дослідження показали, що натрієва сіль n-пальметилглутамінової кислоти за параметрами гострої токсичності належить до малонебезпечних речовин (4 клас безпеки) згідно з ГОСТ 12.1.007 (ЛД₅₀ *per os* >5000 мг/кг, ЛД₅₀ *per cut* >2500 мг/кг), не спричиняє шкірно-подразнюючу дію, має слабкі цитотоксичні властивості (K_c — 3,22 умов. од., H₅₀ — 0,02377 умов. од., I_{ts} 0,02-86,9 умов. од.) [13, 6].

Необхідно відзначити, що за зазначеними показниками натрієва сіль n-пальметилглутамінової кислоти найбільш безпечна і єдина серед досліджених Амф.ПАР 4 класу небезпечності. Дослідження резорбтивної дії показали, що за тривалих багаторазових аплікацій її 5% водного розчину не відзначено змін гематологічних показників крові (p>0,05), а незначні коливання біохімічних показників (достовірно зменшення вмісту альбуміну, підвищення рівня глюкози за 30 діб та цілковите відновлення у наступні терміни спостереження) можна вважати пов'язаними з адаптивно-компенсаторними функціями організму (табл. 4). Проте імунна система виявилася достатньо чутливою до впливу натрієвої солі n-пальметилглутамінової кислоти, як і до дії попередньої ПАР. Імунотоксична дія проявляється у супресії Т- і В-ланок імунітету, що визначається за 90 діб без наступного відновлення через 30 діб після закінчення аплікацій (p<0,05), у пригніченні неспецифічних факторів захисту організму протягом усього терміну спостереження та розвитку гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ) на 90-ту добу аплікацій, яка трималась і у відновлювальний період. Тобто резорбтивні властивості встановлені за імунотоксичною дією, як і у випадку з динатрій кокоамфодіацетатом (табл. 4). Враховуючи низький рівень токсичності за параметрами гострої токсичності при введенні у шлунок та нанесенні на шкіру, відсутність шкірно-подразнюючої дії, низький рівень цитотоксичності, але наявність резорбтивних властивостей за імунотоксичною дією, натрієва сіль n-пальметилглутамінової кислоти належить до ПАР середньої токсичності.

Висновок

1. Результати порівняльної оцінки токсичності Амф.ПАР показали, що кокамідпропілбетаїн, алкілдиметилбетаїн, динатрій кокоамфодіацетат, натрієва сіль n-пальметилглутамінової кислоти мають цитотоксичні та резорбтивні властивості різного ступеня прояву. Їхня негативна біологічна дія за епікутанним впливом на організм у рекомендованій до застосування концентрації (5%) за тривалої дії (3 місяці)

Таблиця 4
Динаміка змін гематологічних, біохімічних та імунологічних показників крові морських свинок під впливом епікутанної дії 5% водного розчину натрієвої солі n-пальметилглутамінової кислоти на морських свинок (n = 6)

Показник, одиниці виміру/ умовні позначення	Значення показників протягом терміну спостереження (M ± m дослід, t / M ± m контроль)		
	За 30 діб аплікацій	За 90 діб аплікацій	За місяць після аплікацій
Т-лімфоцити, %	25,83 ± 0,40, 0,85/27,00 ± 1,32	22,80 ± 1,16*, 3,29/27,67 ± 0,92	20,60 ± 0,24*, 12,69/28,33 ± 0,56
В-лімфоцити, %	22,50 ± 0,43, 1,03/24,17 ± 1,56	18,40 ± 0,98*, 3,26/ 22,17 ± 0,60	18,60 ± 0,24*, 6,75/24,17 ± 0,79
Кількість фагоцитуючих клітин (ФАГ), %	68,17 ± 0,79*, 9,93/79,33 ± 0,80	70,40 ± 0,68*, 4,55/77,83 ± 0,98	70,40 ± 1,21*, 6,53/80,33 ± 0,92
Індекс гальмування розпластування макрофагів (ІГ), умов.од.	0,96	0,65**	0,50**
Альбумін, мг/дл/	2,67 ± 0,12*, 2,50/3,3 ± 0,21	3,1 ± 0,22, 0,94/3,42 ± 0,27	2,98 ± 0,19, 0,71/3,13 ± 0,07
Глюкоза, ммоль/л/	7,74 ± 0,19*, 2,24/6,55 ± 0,46	7,15 ± 0,52, 1,44/6,24 ± 0,33	7,59 ± 0,27, 0,57/6,25 ± 0,24

підтверджена достовірними змінами гематологічних, біохімічних та імунологічних показників (для кокамідопропілбетаїну), біохімічних та імунологічних показників (для алкілдиметилбетаїну), імунологічних показників (для динатрію кокоамфодіацетату, натрієвої солі *n*-пальметилглутамінової кислоти).

2. Найбільш чутливою до дії Амф.ПАР виявилась імунна система організму. Встановлено, що імунотоксичні властивості мають усі досліджені Амф.ПАР, навіть така «м'яка», як натрієва сіль *n*-пальметилглутамінової кислоти. Вплив на імунну систему всіх досліджених Амф.ПАР характеризується пригніченням окремих ланок імунної системи і сенсibilізацією організму.

3. Найбільш токсичною Амф.ПАР за усіма показниками є кокамідопропілбетаїн. Кокамідопропілбетаїн, єдиний з досліджених сурфактантів, спричиняє розвиток гіперчутливості двох типів: негайного і сповільненого.

4. При виборі Амф.ПАР для створення очищувальних косметичних засобів слід надавати перевагу натрієвій солі *n*-пальметилглутамінової кислоти, динатрію кокоамфодіацетату і обов'язково додавати до складу готового засобу поживні, зволожуючі, пом'якшуючі шкіру речовини.

5. Дослідження безпечності нових Амф.ПАР з метою надання рекомендацій щодо їх застосування як компонентів косметичних засобів необхідно проводити у довготривалому експерименті з залученням лабораторних тварин та використанням гематологічних, біохімічних та імунологічних методів досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Сухая кожа / под. общ. ред. Эрнандес Е.И. — М. : Косметика и медицина, 2012. — С. 67-70 с.
2. Surfactants, skin cleansing protagonists / M. Corazza, M.M. Laurla, M. Zappaterra et al. // J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol. — 2010. — № 24 (1). — P. 1-6.
3. Гуссенс А. Контактные-аллергические реакции на косметику // Косметика и медицина. — 2011. — № 4. — С. 48-58.
4. Экспресс-метод оценки обшчетоксического и кожно-

раздражающего действия парфюмерно-косметической продукции *in vitro* (на культуре подвижных клеток) : метод. рек. № 29 ФЦ/394. — М. : Минздрав РФ, 2002. — 10 с.

5. Пат. № 287276, UA, МПК (2006)A61B 10/00. Спосіб оцінки цитотоксичної дії засобів на основі поверхнево-активних речовин / О.І. Волощенко, Раецька О.В., О.І.Яловенко, А.І. Кузьміна; заявник та патентовласник ДУ «Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва АМНУ». — № U 200706922; заявл. 19.06.07; опубл. 25.12.2007, Бул. № 21.

6. Оцінка токсичності поверхнево-активних речовин на культурі рухливих клітин / О.І. Яловенко, О.В. Раецька, О.М. Голіченков та ін. // Довкілля і здоров'я. — 2014. — № 3 (70). — С. 15-18.

7. Токсиколого-гігієнічна характеристика сучасних поверхнево-активних речовин та розробка профілактичних заходів щодо їх можливого впливу на організм / О.М. Голіченков, О.В. Раецька, О.І. Яловенко та ін. // Актуальні питання захисту довкілля та здоров'я населення України (результати наукових розробок 2014 р.) / ДУ «ІГМЕ ім. О.М. Марзєєва НАМНУ»; за ред. А.М. Сердюка. — К., 2015. — С. 309-334.

8. Раецька О.В. Гостра токсичність як один із критеріїв систематизації поверхнево-активних речовин / О.В. Раецька, О.І. Яловенко, А.І. Кузьміна // Гігієна населених місць. — К., 2013. — Вип. 62. — С. 136-139.

9. Натрия кокоил глутамат [Электронный ресурс]. — Режим доступа : http://cosmetic.ua/natriya_kokoil_glutamat

REFERENCES

1. *Ernandes E.I. (ed.) Sukhaia kozha [Dry Skin]*. Moscow : Kosmetika i meditsina ; 2012 : 67 — 70 p. (in Russian).
2. *Corazza M., Laurla M.M., Zappaterra M., Bianchi A., Virgili A. J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol. 2010 ; 24 (1) : 1-6.*
3. *Gussens A. Kosmetika i meditsina. 2011 ; 4 : 48-58 (in Russian).*
4. *Ekspress-metod otsenki obshchetoksicheskogo i kozhno-razdrzhaiushchego deistviia parfiumerno-kosmeticheskoi produktsii in vitro (na kulture*

podvizhnykh kletok) : metod. rekomendatsii № 29 FTs/394 [Express Method for the Assessment of Generally Toxic and Skin-Irritative Effect of Perfumery and Cosmetic Products in vitro (on the Culture of Mobile Cells)]. Moscow : Minzdrav RF ; 2002 : 10 p. (in Russian).

5. *Voloshchenko O.I., Raietska O.V., Yalovenko O.I., Kuzmina A.I. Pat. № 287276, UA, МПК (2006)A61B 10/00. Sposib otsinky tsytotoksychnoi dii zasobiv na osnovi poverkhnevo-aktyvnykh rehovyn [Method of the Assessment of the Cytotoxic Effect of the Agents Based on the Surfactants]*. № U 200706922 ; yayavl. 19.06.07; opubl. 25.12.2007, Byul. № 21 (in Ukrainian).

6. *Yalovenko O.I., Raietska O.V., Holichenkov O.M., Babiy V.F., Kondratenko O.Ye. Pimushyna M.V. Dovkilla i zdorovia. 2014 ; 3 (70) : 15-18 (in Ukrainian).*

7. *Holichenkov O.M., Raietska O.V., Yalovenko O.I. et al. Toksykologho-hihiienichna kharakterystyka suchasnykh poverkhnevo-aktyvnykh rehovyn ta rozrobka profilaktychnykh zakhodiv shchodo yikh mozhlyvoho vplyvu na orhanizm [Toxicological-and-Hygienic Characteristic of Modern Surfactants and Development of the Preventive Measures for their Possible Impact on the Organism]*. In : *Aktualni pytannia zakhystu dovkillia ta zdorovia naseleennia Ukrainy (rezultaty naukovykh rozrobok 2014 r.) [Topic Issues of the Protection of the Environment and Health of the Population of Ukraine (Results of the Scientific Developments, 2014)]*. Kyiv ; 2015 : 309-334 (in Ukrainian).

8. *Raetska O.V., Yalovenko O.I., Kuzmina A.I. Hostra toksychnist yak odyn iz kryteriivsystematyzatsii poverkhnevo-aktyvnykh rehovyn [Acute Toxicity as One of the Criteria of the Systematization of the Surfactants]*. In : *Hihiena naseleenykh mist [Hygiene of Settlements]*. Kyiv ; 2013 ; 62 : 136-139 (in Ukrainian).

9. *Natriia kokoil gliutamat [Sodium Cocoyl Glutamate]*. Available at : http://cosmetic.ua/natriya_kokoil_glutamat (in Russian).

Надійшла до редакції 28.03.2016