

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-171-178](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-171-178)
УДК 615.263.62



Оригинальная статья / Research article

Сравнительная эффективность трансдермальных форм для терапии алопеции

У. В. Ногаева^{1*}, Д. Ю. Ивкин¹, Г. А. Плиско¹, Е. В. Флисюк¹, В. Е. Ковансков¹,
Ю. Г. Штырлин², К. О. Сидоров¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18

*Контактное лицо: Ногаева Ульяна Валерьевна. E-mail: uljana.nogaeva@pharminnotech.com

ORCID: У. В. Ногаева – <https://orcid.org/0000-0002-8214-7553>; Д. Ю. Ивкин – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Г. А. Плиско – <https://orcid.org/0000-0003-0869-3430>;

Е. В. Флисюк – <https://orcid.org/0000-0001-8077-2462>; В. Е. Ковансков – <https://orcid.org/0000-0001-5783-8339>; Ю. Г. Штырлин – <https://orcid.org/0000-0002-2777-719X>;

К. О. Сидоров – <https://orcid.org/0000-0002-7573-1719>.

Статья поступила: 20.10.2021

Статья принята в печать: 10.12.2021

Статья опубликована: 27.12.2021

Резюме

Введение. Алопеция – полиэтиологическое заболевание, при котором наблюдается повышенное выпадение волос и уменьшение их количества на единицу площади. Облысение доставляет пациентам психологический и социальный дискомфорт, в связи с чем важной задачей является разработка составов, по своей эффективности превосходящих эталонные средства.

Цель. Изучение возможности применения оригинальной субстанции У в нескольких ЛФ для терапии алопеции в сравнении с референс-препаратами: миноксидилом и репейным маслом.

Материалы и методы. Объектом исследования стала оригинальная субстанция У, для которой было изготовлено несколько лекарственных форм: гель, спиртовой и масляные составы. Исследование эффективности и безопасности разработанных препаратов проведено на 9 группах мышей-самцов линии C57BL/6. Депиляция с дальнейшей оценкой процентного соотношения волосных фолликулов в фазах роста и покоя апробирована в качестве доклинической модели алопеции. При изучении механизма действия вещества У проводился хемилюминесцентный анализ по сравнению с природным антиоксидантом кверцетином в системе люминол – 2,2'-азобис(2-амидинопропана)дигидрохлорид, в среде калий-фосфатного буфера (рН = 7,4). Статистическая обработка результатов проведена с помощью двухфакторного дисперсионного анализа посредством программы GraphPad Prism 8.0.2, США при уровне статистической значимости различий $p < 0,05$ и $p < 0,005$.

Результаты и обсуждение. На основе результатов гистологического анализа и визуальных изменений установлено, что эффективность топических форм вещества У убывает в ряду: гель, спиртовая форма, масляный состав. Использование комбинации гелевой основы с испытуемым веществом У привело к появлению большего количества волосных фолликулов в фазе роста, чем при нанесении референсного препарата – 2% раствора миноксидила (различия статистически значимы). Хемилюминесцентная оценка антиоксидантной активности показала отсутствие антиоксидантного действия у вещества У.

Заключение. Исследование объединяет два фармацевтических профиля: технологический и фармакологический. В ходе проведенных экспериментов показана перспективность гелевой формы оригинального вещества У для топической терапии алопеции. В ближайшее время планируется изучение механизма действия вещества У, а также оформление патентной защиты нового ЛП.

Ключевые слова: алопеция, миноксидил, доклинические исследования, трансдермальные лекарственные формы, волосной фолликул

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Ю. Г. Штырлин синтезировал субстанцию У. Е. В. Флисюк и У. В. Ногаева разработали составы и изготовили топические лекарственные формы. Д. Ю. Ивкин, У. В. Ногаева, Г. А. Плиско провели доклинические исследования эффективности и безопасности полученных составов, а также хемилюминесцентную оценку антиоксидантной активности. У. В. Ногаева, Д. Ю. Ивкин, В. Е. Ковансков и К. О. Сидоров участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Ногаева У. В., Ивкин Д. Ю., Плиско Г. А., Флисюк Е. В., Ковансков В. Е., Штырлин Ю. Г., Сидоров К. О. Сравнительная эффективность трансдермальных форм для терапии алопеции. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4-1):171-178. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-171-178](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-171-178)

Comparative Efficacy of Transdermal Forms for Alopecia Therapy

Uljana V. Nogaeva^{1*}, Dmitry Yu. Ivkin¹, Grigoriy A. Plisko¹, Elena V. Flisyuk¹,
Vladislav E. Kovanskov¹, Yuri G. Shtyrlin², Kirill O. Sidorov¹

¹ Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Professor Popov str., St. Petersburg, 197376, Russia

² Kazan (Volga region) Federal University, 18, Kremlevskaya str., Kazan, 420008, Russia

*Corresponding author: Uljana V. Nogaeva. E-mail: uljana.nogaeva@pharminnotech.com

ORCID: Uljana V. Nogaeva – <https://orcid.org/0000-0002-8214-7553>; Dmitry Yu. Ivkin – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Grigoriy A. Plisko – <https://orcid.org/0000-0003-0869-3430>;

Elena V. Flisyuk – <https://orcid.org/0000-0001-8077-2462>; Vladislav E. Kovanskov – <https://orcid.org/0000-0001-5783-8339>; Yuri G. Shtyrlin – <https://orcid.org/0000-0002-2777-719X>;

Kirill O. Sidorov – <https://orcid.org/0000-0002-7573-1719>.

Received: 20.10.2021

Revised: 10.12.2021

Published: 27.12.2021

© Ногаева У. В., Ивкин Д. Ю., Плиско Г. А., Флисюк Е. В., Ковансков В. Е., Штырлин Ю. Г., Сидоров К. О., 2021

© Nogaeva U. V., Ivkin D. Yu., Plisko G. A., Flisyuk E. V., Kovanskov V. E., Shtyrlin Yu. G., Sidorov K. O., 2021

Abstract

Introduction. Alopecia is a polyetiological disorder characterized by hair loss and reducing their number per unit area. Baldness causes psychological and social discomfort to patients, in connection with what an important task is to develop formulations that are more effective than the reference agents.

Aim. Investigate the possibility of applying the original substance Y in several dosage forms for the treatment of alopecia in comparison with reference drugs: minoxidil and burdock oil.

Materials and methods. The research subject was the original substance Y, for which several dosage forms were made: gel, alcohol and oil compositions. The study on the effectiveness and safety of the developed formulations was carried out on 9 groups of male C57BL/6 mice. Depilation with further assessment of the percentage of hair follicles in the growth and resting phases was tested as a pre-clinical model of alopecia. In the study of the mechanism of action of substance Y, chemiluminescent assay was performed compared with natural antioxidant quercetin in the system luminol – 2,2'-azo-bis(2-amidinopropane)dihydrochloride, in potassium-phosphate buffer medium (pH = 7.4). Statistical processing of the results was carried out using two-way ANOVA using GraphPad Prism 8.0.2, USA software at the level of statistical significance of differences $p < 0.05$ and $p < 0.005$.

Results and discussion. Based on the results of histological analysis and visual changes, it was found that the effectiveness of the topical forms of substance Y decreases in the following order: gel, alcohol form, oil composition. The use of a combination of the gel base with the test substance Y resulted to the appearance of a larger number of hair follicles in the growth phase than when using the reference preparation – 2 % minoxidil solution (the differences are statistically significant). Chemiluminescent assessment of antioxidant activity showed the lack of antioxidant effect in substance Y.

Conclusion. The study combines two pharmaceutical profiles: technological and pharmacological. In the course of the experiments, the prospects of the gel form of the original substance Y for topical therapy of alopecia were shown. In the near future, it is planned to study the mechanism of action of substance Y, as well as registration of patent protection for a new drug.

Keywords: alopecia, minoxidil, preclinical studies, transdermal dosage forms, hair follicle

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Yuri G. Shtyrlin synthesized substance Y. Elena V. Flisyuk and Uljana V. Nogaeva developed formulations and manufactured topical dosage forms. Dmitry Yu. Ivkin, Uljana V. Nogaeva, Grigorij A. Plisko conducted preclinical studies of the efficacy and safety of the formulations obtained, as well as chemiluminescent assay of antioxidant activity. Uljana V. Nogaeva, Dmitry Yu. Ivkin, Vladislav E. Kovanskov, Kirill O. Sidorov participated in writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Nogaeva U. V., Ivkin D. Yu., Plisko G. A., Flisyuk E. V., Kovanskov V. E., Shtyrlin Yu. G., Sidorov K. O. Comparative efficacy of transdermal forms for alopecia therapy. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4–1):171–178. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-171-178](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-171-178)

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания волос представляют собой значимую медико-социальную проблему, связанную с их широкой распространенностью и серьезным влиянием на качество жизни человека [1, 2].

По статистике около 50 % населения в той или иной степени сталкиваются с алопецией. Патология проявляется повышенным выпадением волос и уменьшением их плотности на единицу площади. В норме человек ежедневно может терять до 100 волос, потеря большего количества уже является признаком заболевания и требует особого внимания.

Анализ современного ассортимента лекарственных препаратов (ЛП) для терапии алопеции приводит к выводу о необходимости поиска и разработки новых активных фармацевтических субстанций (АФС) [3, 4].

Поскольку терапевтическая эффективность АФС во многом определяется лекарственной формой (ЛФ), **целью работы** стало изучение возможности применения оригинальной субстанции У в несколь-

ких ЛФ для терапии алопеции в сравнении с референс-препаратами.

Во время работы решались следующие задачи:

1. Разработка состава и изготовление топических ЛФ испытуемого вещества.
2. Сравнение фармакологической активности вещества У в различных ЛФ.
3. Сравнение эффективности исследуемой субстанции У и референтных препаратов: 2 % раствора миноксидила и репейного масла по влиянию на рост волос на доклинической модели алопеции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стало вещество У, являющееся по своей химической природе азотсодержащим органическим соединением. В ходе хронического токсического эксперимента на 13 самцах и самках кроликов породы советская шиншилла была обнаружена способность испытуемой субстанции стимулировать рост волос.

Базируясь на данных анализа рынка препаратов для терапии алопеции, было решено изучить компонент У в форме геля на основе гидроксипропилметилцеллюлозы, спиртового и масляного растворов. Концентрация действующего вещества во всех ЛФ составила 1 %. При изготовлении составов использовали весы OHAUS PA-214, США и мешалку с верхним приводом Heidolph RZR 2000, Германия.

В качестве референтных препаратов животным наносили 2 % спиртовой раствор миноксидила (Генералон®, спрей для наружного применения 60 мл, производства БЕЛУПО, Хорватия, серия P123, срок годности до 07.2022) и репейное масло (Репейное масло, 100 мл, ООО «Эльффарма.ру», Россия, срок годности до 04.2023).

Депиляция животных с последующей оценкой состояния и процентного соотношения волосяных луковиц (ВЛ) в стадии роста (анагена) и покоя была выбрана в качестве доклинической модели алопеции [5]. Основным эксперимент был проведен на мышах-самцах линии C57BL/6 с начальной средней массой тела 14–16 г. Методом рандомизации животных разделили на 9 групп по 8 мышей. Количество животных, используемое в исследовании, было достаточным для получения статистически достоверных результатов, и при этом минимальным по биоэтическим принципам. В первый день исследования каждому животному по трафарету на дорсальной части спины выщипывали участок шерсти размером 2 × 2 см. В течение последующих 28 дней мышам на кожу наносили испытываемые ЛП.

По истечению времени эксперимента животных подвергали эвтаназии в CO₂-боксе (установка для эвтаназии BIOSCAPE ИД № БЭ/01/ЦЭФ; время программы: 720 секунд) и со спины брали участки кожи для гистологического анализа.

В качестве статистической обработки результатов исследования выполняли расчёт элементарных статистик: средние значения и стандартные ошибки среднего ($M \pm m$). Для оценки статистических различий применяли двухфакторный дисперсионный анализ, при котором рассматривали влияние ЛП на соотношение количества волосяных фолликулов (ВФ), находящихся в фазах роста и покоя с помощью программы GraphPad Prism 8.0.2, США при уровнях статистической значимости различий $p < 0,05$ и $p < 0,005$.

Фармакологический эффект некоторых средств, в том числе, способность стимулировать рост волос, обусловлен их антиоксидантными свойствами [6, 7], поэтому стоило выяснить, обладает ли такой активностью вещество У.

Исследование общей антиоксидантной активности исследуемых образцов проводили в системе люминол – 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана)дигидрохлорид, в среде калий-фосфатного буфера (рН = 7,4) на хемилюминиметре Lum-5773 (ООО «ДИСофт», Россия) при поддержке ПО PowerGraph 3.3. Природный антиоксидант – кверцетин был взят в качестве контроля.

В кювету помещали 465 мкл калий-фосфатного буферного раствора, 10 мкл раствора люминола, 60 мкл рабочего раствора экстракта, перемешивали. В течение пяти минут инкубировали при температуре 37 °С, после чего добавляли 60 мкл рабочего раствора 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана). Регистрировали интенсивность хемилюминесценции до середины пика кривой. Параллельно снимали показания контрольного опыта. Повторности замера – 2 раза в идентичных условиях.

Латентный период (ЛП) определяли по формуле:

$$\text{ЛП} = t \text{ до вершины пика}$$

$$\text{с а/о} - t \text{ до вершины пика без а/о.}$$

Процент ингибирования хемилюминесценции (ПИХ) определяли по формуле:

$$\text{ПИХ} = \frac{S_{\text{пика без а/о}} - S_{\text{пика а/о}}}{S_{\text{пика без а/о}}} \cdot 100.$$

Расчет общей антиоксидантной активности (ОАА) проводился по формуле:

$$\text{ОАА} = \frac{(\text{ЛП}_{\text{экстр.}} \cdot C_{\text{кверц.}} \cdot M_{\text{кверц.}} \cdot 1000)}{\text{ПИХ}_{\text{кверц.}} \cdot C_{\text{экстр.}}},$$

$$\text{ОАА ПИХ} = \frac{(\text{ПИХ}_{\text{экстр.}} \cdot C_{\text{кверц.}} \cdot M_{\text{кверц.}} \cdot 1000)}{\text{ПИХ}_{\text{кверц.}} \cdot C_{\text{экстр.}}},$$

где $C_{\text{кверц.}}$ и $C_{\text{экстр.}}$ – концентрация кверцетина и экстракта соответственно, моль/л; $M_{\text{кверц.}}$ – молярная масса кверцетина, г/моль; $\text{ПИХ}_{\text{кверц.}}$ и $\text{ПИХ}_{\text{экстр.}}$ – процент ингибирования хемилюминесценции кверцетина и экстракта соответственно, %; $\text{ЛП}_{\text{кверц.}}$ и $\text{ЛП}_{\text{экстр.}}$ – латентный период кверцетина и экстракта соответственно, с.

Значение ОАА определяли в единицах действия (ЕД) кверцетина, как природного антиоксиданта. ОАА показывает, сколько мг кверцетина соответствует 1 г. исследуемого экстракта по антиоксидантной активности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

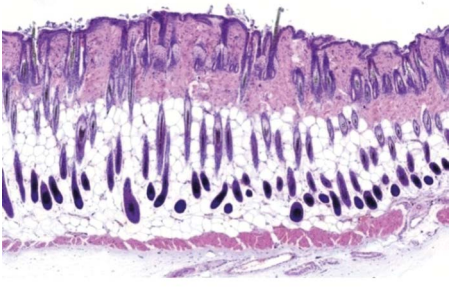
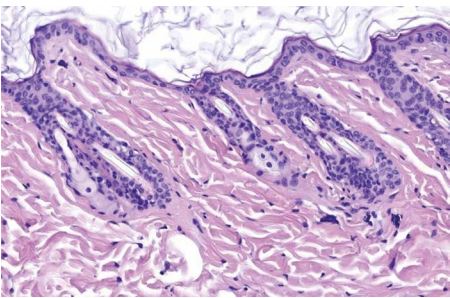
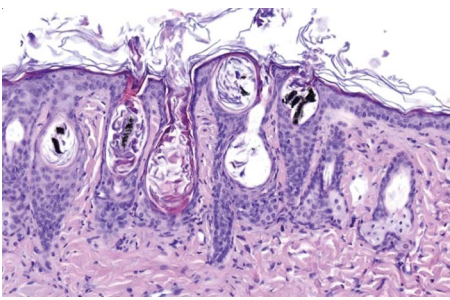
Выбранная нами доклиническая модель – депиляция с дальнейшей оценкой состояния ВФ, была ранее апробирована рядом авторов [8, 9]. При изучении микроскопии срезов кожных лоскутов можно увидеть особенности, обусловленные фазой развития волоса (таблица 1).

Использование фотофиксации позволило наблюдать динамику происходящих изменений и сравнивать визуальный эффект, оказываемый применяемыми препаратами (рисунок 1).

Длительный опыт применения миноксидила и результаты клинических исследований подтверждают целесообразность применения его наружных форм в лечении алопеции [10]. Способность миноксидила препятствовать развитию алопеции доказана и активно используется трихологами на практике.

Таблица 1. Гистологическая характеристика стадий развития волоса

Table 1. Histological characteristics of the stages of hair development

Фаза Phase	Фото Photo
Рост (анаген) Growth (anagen)	
Описание. Корни волос погружены глубоко в подкожную жировую клетчатку. Стержни и корни волос значительно утолщены Description. The hair roots are buried deep in the subcutaneous fatty tissue. Hair shafts and roots are significantly thickened	
Покой (телоген) Rest (telogen)	
Описание. Волосяной фолликул укорочен. Признаков пролиферации эпителиального влагалища волоса нет, стержень волоса тонкий, также без признаков пролиферации его элементов, минимальное количество меланоцитов Description. Hair follicle is shortened. There are no signs of proliferation of the epithelial sheath of the hair, the hair shaft is thin, also without signs of proliferation of its elements, the minimum number of melanocytes	
Отмирание (катаген) Withering away (catagen)	
Описание. Волосяные фолликулы находятся в поверхностных отделах дермы, наблюдается формирование «колбы волоса», признаков пролиферации элементов корня и стержня нет Description. Hair follicles are located in the superficial parts of the dermis, the formation of a «hair bulb» is observed, there are no signs of proliferation of the elements of the root and shaft.	

При использовании миноксидила на выбритом участке дорсальной части спины мышей линии C57BL/6, наблюдалось значимое увеличение количества волосных фолликулов в фазе роста. При этом через полторы-две недели после начала терапии было заметно усиление выпадения волос (период синхронизации).

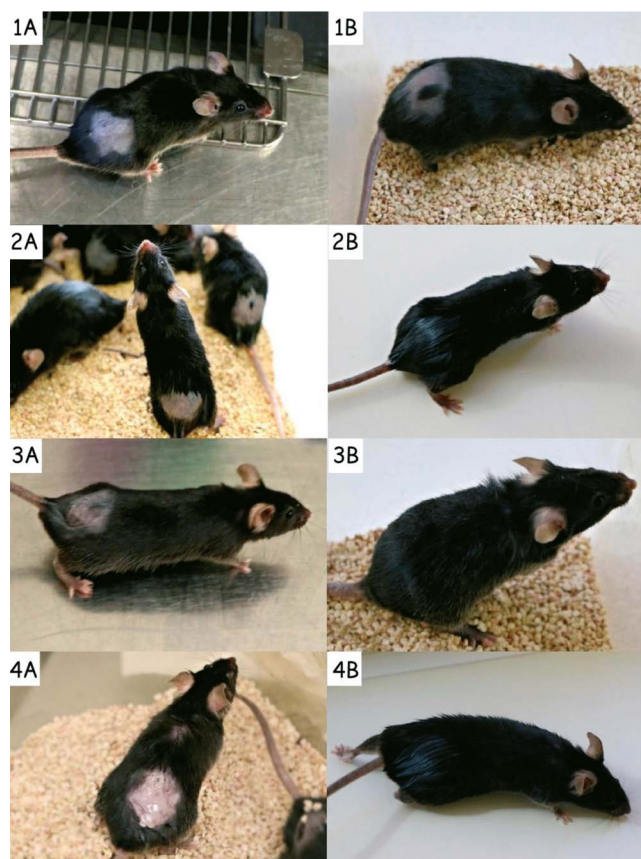


Рисунок 1. Визуальные изменения состояния волосяного покрова.

Примечания. А – 1-й день эксперимента; В – 28-й день эксперимента. 1 – контрольная группа (изотонический раствор хлорида натрия); 2 – референтная группа (репейное масло); 3 – референтная группа (2 % раствор миноксидила); 4 – испытуемое средство (гелевая основа + У)

Figure 1. Visual changes in the state of the hairline.

Notes. A – 1 day of the experiment; B – 28 day of the experiment. 1 – control group (isotonic sodium chloride solution); 2 – reference group (burdock oil); 3 – reference group (2 % minoxidil solution); 4 – test agent (gel base + Y)

Эта же особенность фармакодинамики миноксидила отмечается у ряда авторов [11].

При анализе состава референтного препарата Генералон® было выявлено, что вспомогательными веществами являются 96 % спирт этиловый, пропиленгликоль и вода. Такое сочетание представляет собой растворитель для широкого круга веществ, однако его влияние на рост волос мало изучено. Поэтому в лабораторных условиях приготовили основу состава: этанол 6 мл, пропиленгликоль 2 мл, вода очищенная до 10 мл и наносили ее животным на выбритый участок спины.

Результаты гистологического исследования свидетельствовали о том, что топическое применение основы на тест-системе в течение 28 дней привело к двукратному уменьшению числа ВЛ в фазе роста по сравнению с миноксидилом: $11,2 \pm 2,31 \%$ и $22,13 \pm 2,57 \%$, соответственно. Вероятно, такой ре-

зультат связан с подсушивающим действием спирта, которое стимулирует усиление выработки кожного сала и закупоривание пор. Похожие наблюдения отмечались в исследовании, проведенном в Корее, где на десятый день эксперимента у группы, получавшей 50 % этиловый спирт, плотность ВФ была значительно ниже, чем у животных, которым наносили 3 % миноксидил [12].

Включение испытуемого вещества У в состав спиртовой основы привело к переходу $61,00 \pm 3,03$ % ВФ в стадию роста, что практически в 5,45 раз превышает данные группы, получавшей чистую спиртовую основу, значения статистически значимы. По сравнению с животными, которым наносили миноксидил, у мышей, получавших основу с компонентом У, количество ВФ в фазе роста было в три раза больше. При попытке объяснить этот феномен возникает несколько гипотез:

1. Результат может быть связан с большей клинической эффективностью вещества У по сравнению с миноксидилом.
2. Для эксперимента была взята 2 % концентрация миноксидила, менее эффективная, чем 5 %, рекомендованная Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) при лечении андрогенетической алопеции у мужчин.
3. Связь с недостаточной продолжительностью терапии, поскольку известно, что максимальный эффект миноксидила развивается через 5–6 недель постоянного нанесения [13].

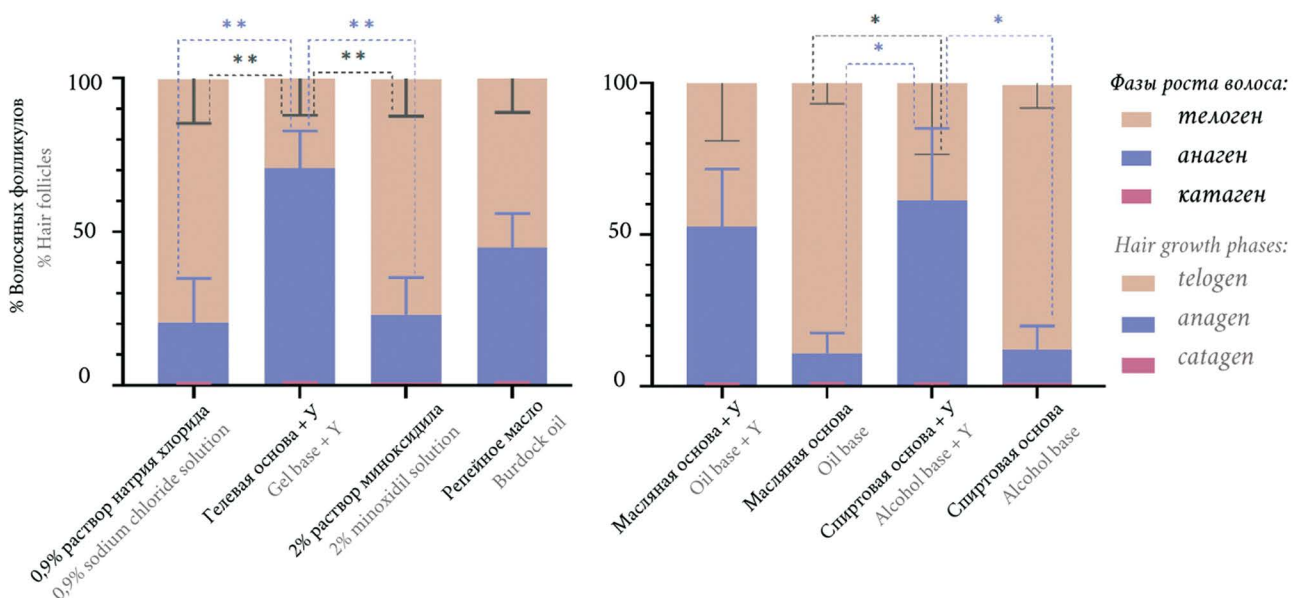
С целью применения масляных составов для наружной терапии алопеции, была изготовлена эмульсионная основа, состоящая из 8,5 частей миндального масла, 0,5 частей масла чайного дерева и 1 части изопропилового спирта, как растворителя АФС и пенетранта [14].

Согласно проведенным исследованиям, препарат сравнения – репейное масло оказался клинически лучше масляной основы и наглядно подтвердил свой фармакологический эффект. При нанесении масляной основы + У наблюдался результат, сопоставимый с действием репейного масла – $52,33 \pm 19,01$ % ВЛ в анагене. Чистая масляная основа привела к появлению только $10,29 \pm 6,75$ % ВФ в фазе роста, вероятно, из-за нарушения питания волоса и забивания пор.

В литературе описаны данные, свидетельствующие о том, что использование гелей при алопеции позволяет увеличить время экспозиции и эффективность терапии [15, 16].

На базе GMP тренинг-центра СПХФУ была разработана гелевая основа, содержащая в своем составе компонент У. Оказалось, что полученная форма обладает наивысшей эффективностью среди изученных ЛП: $70,25 \pm 1,45$ ВФ в стадии роста. При этом гелевая основа без АФС также способствовала развитию положительной динамики – $52,67 \pm 12,77$ % ВЛ. Оба геля по стимулированию перехода ВФ из стадии покоя в фазу роста превзошли референс-препараты.

Результаты статистической обработки представлены на рисунке 2.



Примечание: данные представлены в виде Mean with SEM; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,005$
Note: data are presented as Mean with SEM; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,005$

Рисунок 2. Статистические различия между исследуемыми и контрольными группами
Figure 2. Statistical differences between study and control groups

Делая обобщение по проведённым экспериментам, можно сказать о терапевтической эффективности субстанции У для терапии алопеции.

Степень влияния испытуемых форм с веществом У на переход ВФ в фазу роста уменьшается в ряду: гелевая основа + У, спиртовая основа + У, масляная основа + У. Хотя визуально волосы росли с разной скоростью, к концу эксперимента волосяной покров у всех животных приобрёл первоначальный вид. Эти данные могут быть обусловлены биофармацевтическими аспектами используемых лекарственных форм. На рисунке 3 представлена зависимость числа ВФ в фазе роста от используемого препарата на 29-й день эксперимента.

Обращаясь к клиническому применению, важно сказать об особенностях нанесения разработанных ЛП. Гель требует втирания в кожу головы, он гидрофильный и не оставляет жирных следов. Спиртовой раствор следует распылять, а форму на масляной основе после некоторого периода экспозиции необходимо смыть.

Хемилюминесцентная оценка антиоксидантной активности, как одного из возможных механизмов действия, показала, что с повышением концентрации субстанции У наблюдалась тенденция нарастания хемилюминесценции вплоть до отсутствия латентного периода, пик нарастания длительный и выше контроля (рисунок 4 и таблица 2).

Таблица 2. Результаты хемилюминесцентного анализа

Table 2. Results of chemiluminescence analysis

Образец Sample	Концентрация У, г/система Concentration Y, g/system	ПИХ, % PCI, %	ОАА, ЕД кверцетина GAA, AU of quercetin			ОАА _{пик} , ЕД кверцетина GAA _{PCI} , AU of quercetin		
			1,02 · 10 ⁻⁹ г	2,04 · 10 ⁻⁹	2,04 · 10 ⁻¹⁰	1,02 · 10 ⁻⁹	2,04 · 10 ⁻⁹	2,04 · 10 ⁻¹⁰
Количество кверцетина в исследуемой системе, г The amount of quercetin in the system under study, g			1,02 · 10 ⁻⁹ г	2,04 · 10 ⁻⁹	2,04 · 10 ⁻¹⁰	1,02 · 10 ⁻⁹	2,04 · 10 ⁻⁹	2,04 · 10 ⁻¹⁰
Субстанция У Substance Y	6 · 10 ⁻⁴	Вызывает быстрый и длительный рост хемилюминесценции без латентного периода: предположительно продукция окислителей Causes a rapid and prolonged increase in chemiluminescence without a latency period: presumably the production of oxidants						
	6 · 10 ⁻⁶	30,5 ± 1,2	44,12	87,70	8,18	8,33	13,67	0,73
	1,2 · 10 ⁻⁶	28 ± 3,1	216,36	430,92	39,67	24,30	14,93	2,14
	6 · 10 ⁻⁷	22,5 ± 2,6	458,65	908,40	86,84	30,24	18,66	-2,66

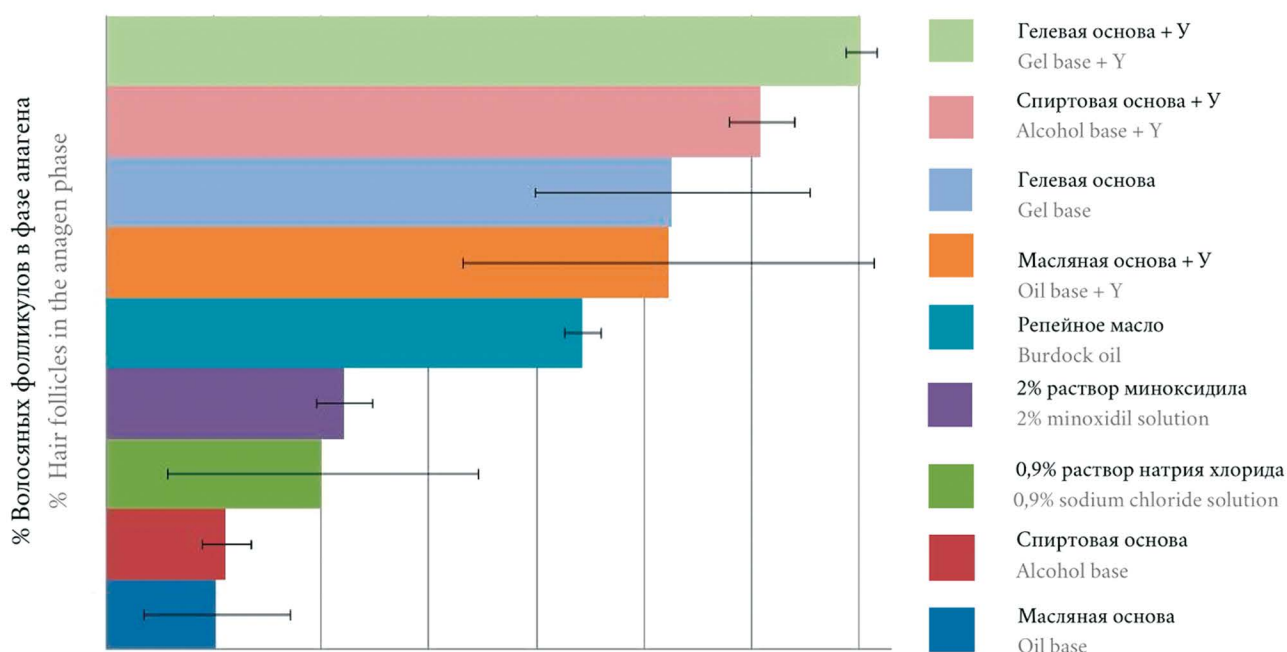


Рисунок 3. Влияние препаратов на число волосных фолликулов в фазе роста ($M \pm m$, $n = 8$)

Figure 3. The effect of drugs on the number of hair follicles in the growth phase ($M \pm m$, $n = 8$)

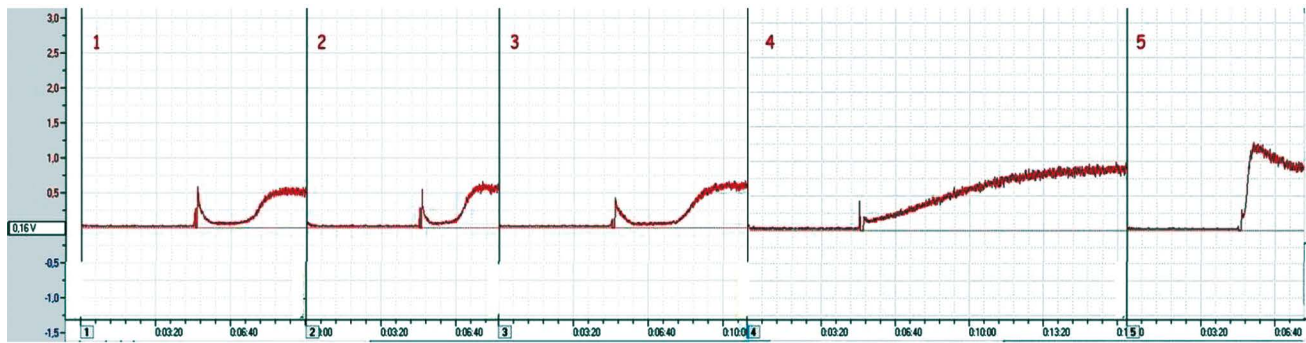


Рисунок 4. Графическая зависимость интенсивности хемилюминесценции во времени:

1 – кверцетин 1,02e-9; 2 – кверцетин 2,04e-9; 3 – кверцетин 2,04e-10; 4 – субстанция У 6e-4; 5 – субстанция У 6e-6

Figure 4. Graphical dependence of the intensity of chemiluminescence in time:

1 – quercetin 1.02e-9; 2 – quercetin 2.04e-9; 3 – quercetin 2.04e-10; 4 – substance Y 6e-4; 5 – substance Y 6e-6

Хемилюминесцентный анализ антиоксидантной активности субстанции У, проводимый в сравнении с природным антиоксидантом кверцетином, позволил опровергнуть гипотезу об антиоксидантной активности исследуемого вещества. Следует предположить, что вещество У обладает иным механизмом действия, что требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для исследуемого компонента У были разработаны составы гелевой, спиртовой и масляной форм. Субстанция показала выраженную способность стимулировать рост волос на двух тест-системах (кролики и мыши). Сравнение эффективности исследуемого вещества в трёх ЛФ показало, что наибольший клинический эффект наблюдается при использовании геля, меньший при нанесении спиртового раствора и минимальный – в случае применения масляной формы. Сопоставление результатов гистологического анализа свидетельствует о том, что гель с компонентом У эффективнее 2 % раствора миноксидила (различия статистически значимы). Хемилюминесцентный анализ показал, что фармакологическое действие испытуемого вещества У не связано с антиоксидантной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

- Phillips T. G., Slomiany W. P., Allison R. Hair loss: common causes and treatment. *American Family Physician*. 2017;96(6):371–378.
- Tai T., Kochhar A. Physiology and medical treatments for alopecia. *Facial plastic surgery clinics of North America*. 2020;28(2):149–159. DOI: 10.1016/j.fsc.2020.01.004.
- Asnaashari S., Javadzadeh Y. Herbal medicines for treatment of androgenic alopecia. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2020;26(4):27–35.
- Cardoso C. O., Tolentino S., Gratieri T., Cunha-Filho M., Lopez R., Gelfuso G. M. Topical treatment for scarring and non-scarring alopecia: an overview of the current evidence. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2021;14:485–499. DOI: 10.2147/CCID.S284435.
- Ивкин Д. Ю., Ногаева У. В., Флисюк Е. В., Писецкая М. В., Штырлин Ю. Г. Алопеция: от клиники к доклинике и обратно. *Формулы Фармации*. 2019;1(1):44–51. DOI: 10.17816/phf18524.
- Тринеева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Определение антиоксидантной активности извлечений из листьев крапивы двудомной различными методами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):59–66. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-59-66.
- Тринеева О. В. Сравнительная характеристика определения антиоксидантной активности плодов облепихи крушиновидной различными методами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(4):48–52. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-4-48-52.
- Вишнякова Х. С., Веткова Л. Г., Алипер А. М., Жаворонков А. А., Снежкина А. В., Кудрявцева А. В., Попов К. В., Егоров Е. Е. Действие средства для стимуляции роста волос направлено, вероятно, против старения волосяных фолликулов: эксперименты на мышах и транскриптомный анализ. *Успехи геронтологии*. 2014;4:631–636.
- Zhanga Y., Wanga J., Qua F., Zhanga Yu., Su G., Zhao Yu. Hair growth promotion effect of cedrol cream and its dermatopharmacokinetics. *RSC Advances*. 2018;8:42170–42178. DOI: 10.1039/C8RA08667B.
- Stoehr J. R., Choi J. N., Colavincenzo M., Vanderweil S. Off-label use of topical minoxidil in alopecia: A Review. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2019;20(2):237–250. DOI: 10.1007/s40257-018-0409-y.
- Олисова О. Ю. Миноксидил в практике врача трихолога. *Медицинский совет*. 2018;6:145–147. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-6-145-147.
- Park K. S., Park D. H. Comparison of Saccharina japonica–Undaria pinnatifida mixture and minoxidil on hair growth promoting effect in mice. *Archives of Plastic Surgery*. 2016;6:498–505. DOI: 10.5999/aps.2016.43.6.498.
- Civatte J. F., Laux B., Simpson N. B., Vickers C. F. 2 % topical minoxidil solution in male-pattern baldness: preliminary European results. *Dermatologica*. 1987;175(2):42–49. DOI: 10.1159/000248902.
- Ouzir M., Bernoussi S. E., Tabyaoui M., Taghzouti K. Almond oil: a comprehensive review of chemical composition, extraction methods, preservation conditions, potential health benefits, and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(4):3344–3387. DOI: 10.1111/1541-4337.12752.
- Гладышев В. В., Гнитько И. В., Лисянская А. П., Дюдюк А. Д. Изучение интенсивности высвобождения миноксидила из мазевых основ. *Актуальные проблемы медицины*. 2014;24(195):242–245.
- Ahmed G., Khare S., Ganguly S., Chhabra N., Prabha N. Topical methotrexate 1 % gel for the treatment of localized alopecia areata. *International Journal of Dermatology*. 2020;59(8):292–293. DOI: 10.1111/ijd.14898.

REFERENCES

1. Phillips T. G., Slomiany W. P., Allison R. Hair loss: common causes and treatment. *American Family Physician*. 2017;96(6):371–378.
2. Tai T., Kochhar A. Physiology and medical treatments for alopecia. *Facial plastic surgery clinics of North America*. 2020;28(2):149–159. DOI: 10.1016/j.fsc.2020.01.004.
3. Asnaashari S., Javadzadeh Y. Herbal medicines for treatment of androgenic alopecia. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2020;26(4):27–35.
4. Cardoso C. O., Tolentino S., Gratieri T., Cunha-Filho M., Lopez R., Gelfuso G. M. Topical treatment for scarring and non-scarring alopecia: an overview of the current evidence. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2021;14:485–499. DOI: 10.2147/CCID.S284435.
5. Ivkin D. Yu., Nogaeva U. V., Flisyuk E. V., Pisetskaya M. V., Shtyrilin Yu. G. Alopecia: from clinic to preclinic and back. *Formuly Farmatsii = Pharmacy Formulas*. 2019;1(1):44–51. (In Russ.) DOI: 10.17816/phf18524.
6. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Safonova E. F. Determination of the antioxidant activity of extracts from the leaves of stinging nettle by various methods. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):59–66. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-59-66.
7. Trineeva O. V. Comparative characteristics of determination of antioxidant activity of sea buckthorn fruits by different methods. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2019;8(4):48–52. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-4-48-52.
8. Vishnyakova Kh. S., Vetkova L. G., Aliper A. M., Zhavoronkov A. A., Snezhkina A. V., Kudryavtseva A. V., Popov K. V., Egorov E. E. The effect of the agent for stimulating hair growth is probably directed against the aging of hair follicles: experiments in mice and transcriptome analysis. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2014;4:631–636. (In Russ.)
9. Zhanga Y., Wanga J., Qua F., Zhanga Yu., Su G., Zhao Yu. Hair growth promotion effect of cedrol cream and its dermatopharmacokinetics. *RSC Advances*. 2018;8:42170–42178. DOI: 10.1039/C8RA08667B.
10. Stoehr J. R., Choi J. N., Colavincenzo M., Vanderweil S. Off-label use of topical minoxidil in alopecia: A Review. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2019;20(2):237–250. DOI: 10.1007/s40257-018-0409-y.
11. Olisova O. Yu. Minoxidil in the practice of a trichologist. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2018;6:145–147. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2018-6-145-147.
12. Park K. S., Park D. H. Comparison of Saccharina japonica–Undaria pinnatifida mixture and minoxidil on hair growth promoting effect in mice. *Archives of Plastic Surgery*. 2016;6:498–505. DOI: 10.5999/aps.2016.43.6.498.
13. Civatte J. F., Laux B., Simpson N. B., Vickers C. F. 2% topical minoxidil solution in male-pattern baldness: preliminary European results. *Dermatologica*. 1987;175(2):42–49. DOI: 10.1159/000248902.
14. Ouzir M., Bernoussi S. E., Tabyaoui M., Taghzouti K. Almond oil: a comprehensive review of chemical composition, extraction methods, preservation conditions, potential health benefits, and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(4):3344–3387. DOI: 10.1111/1541-4337.12752.
15. Gladyshev V. V., Gnit'ko I. V., Lisyanskaya A. P., Dyudyun A. D. Study of the intensity of the release of minoxidil from ointment bases. *Aktual'nye problemy meditsiny = Challenges in modern medicine*. 2014;24(195):242–245. (In Russ.)
16. Ahmed G., Khare S., Ganguly S., Chhabra N., Prabha N. Topical methotrexate 1% gel for the treatment of localized alopecia areata. *International Journal of Dermatology*. 2020;59(8):292–293. DOI: 10.1111/ijd.14898.