



Вивчення ефективності антимікробних консервантів під час обґрунтування складу дерматологічного гелю з фітокомплексом

В. С. Миргород^{id}^{A,B,C,D}, О. Г. Башура^{id}^{A,B,C,D,F}, О. П. Стрілець^{id}^{A,B,C,E,F}, С. Г. Бобро^{id}^{*A,B,C}, Л. С. Стрельников^{id}^{A,E,F}

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мікробіологічна стабільність лікарських засобів завжди потребує пильної уваги на етапі фармацевтичної розробки складу, оскільки мікробне забруднення може становити загрозу і для здоров'я пацієнта, і для стабільності лікарського засобу. Рівень мікробного забруднення можна контролювати шляхом моніторингу якості вихідної сировини, дотримання відповідної санітарної обробки виробничих приміщень та обладнання, використання науково обґрунтованої речовини-консерванта у складі препарату.

Мета роботи – обґрунтування використання речовини-консерванта та її концентрації у складі розроблюваного гелю з фітокомплексом.

Матеріали та методи. Об'єкти дослідження – зразки гелю з додаванням речовин-консервантів: Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксибензоату (E218), сорбінової кислоти, сорбату калію, бензойної кислоти. Використали концентрації антимікробних речовин, що відповідають їхньому середньому значенню від діапазону застосованих концентрацій. Під час досліджень використовували методику оцінювання ефективності антимікробних консервантів, що наведена у ДФУ 2.0.

Результати. Експериментальні дослідження з використанням консервантів Euxyl 9010K 0,60 %, метилпарагідроксибензоату 0,25 %, сорбінової кислоти 0,10 %, сорбату калію 0,25 %, бензойної кислоти 0,15 % у складі зразків розроблюваного гелю з фітокомплексом показали: результати для всіх зразків повністю відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

За результатами першого етапу досліджень, найбільшу антимікробну ефективність показав зразок із консервантом Euxyl 9010K. Предмет другого етапу досліджень – обґрунтування концентрації Euxyl 9010K (0,45 %, 0,60 % і 0,75 %); у підсумку встановили, що зразки гелю з концентраціями Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів. Зразок із концентрацією Euxyl 9010K 0,45 % також відповідає цим вимогам, але логарифм зменшення кількості життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas aeruginosa* через 2 доби зберігання становить 2,00, тобто відповідає граничному значенню за ДФУ.

Висновки. Експериментально обґрунтовано доцільність використання як консерванта Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин) у концентрації 0,60 %.

Ключові слова: гель із фітокомплексом, ефективність, консерванти, Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксибензоат (E218), сорбінова кислота, сорбат калію, бензойна кислота.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 306–313

Study of the efficacy of antimicrobial preservatives in justifying the composition of a dermatological gel with a phytocomplex

V. S. Myrhorod, O. H. Bashura, O. P. Strilets, S. H. Bobro, L. S. Strelnykov

The microbiological stability of medicinal products always requires close attention during the pharmaceutical development phase, as microbial contamination can pose a threat to both the health of the patient and the stability of the medicinal product. The level of microbial contamination can be controlled by monitoring the quality of raw materials, compliance with appropriate sanitation of production facilities and equipment, the use of scientifically justified preservatives in the drug.

The aim of the work is to substantiate the use of a preservative and its concentration in the composition of the developed gel with phytocomplex.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/239291>

UDC 615.262:615.454.1

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.239291](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.239291)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 306–313

Key words: phytocomplex gel, effect, preservatives, Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol), methyl parahydroxybenzoate (E218), sorbic acid, potassium sorbate, benzoic acid.

*E-mail: svetabobro1@gmail.com

Received: 10.08.2021 // Revised: 30.09.2021 // Accepted: 01.10.2021

Materials and methods. The objects of the study were gel samples with the addition of a preservative: Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol), methyl parahydroxybenzoate (E218), sorbic acid, potassium sorbate, benzoic acid. Concentrations of antimicrobial substances used corresponded to their average value from the range of used concentrations. The research has used the method of evaluating the effectiveness of antimicrobial preservatives, given in SPU 2.0.

Results. Experimental studies using preservatives Euxyl 9010K 0.60 %, methyl parahydroxybenzoate 0.25 %, sorbic acid 0.10 %, potassium sorbate 0.25 %, benzoic acid 0.15 % in the samples of the developed gel with phytocomplex had shown that the obtained results for all samples fully meet the requirements of SPU in terms of "antimicrobial efficacy of preservatives" for topical drugs. According to the results of the first stage of research, it had been found that the greatest antimicrobial efficacy was shown by a sample with the preservative Euxyl 9010K. The subject of the second stage of research was the substantiation of the concentration of Euxyl 9010K (0.45 %, 0.60 %, and 0.75 %) based on the results of which it had been established that the gel samples with concentrations of Euxyl 9010K 0.60 % and 0.75 % met the requirements of SPU on the indicator of "antimicrobial efficacy of preservatives" for topical medicinal products. The sample with a concentration of Euxyl 9010K 0.45 % also met these requirements, but the logarithm of the reduction in the number of viable cells of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria after 2 days of storage is 2.00, which was the limit value according to the requirements of SPU.

Conclusions. The expediency of using Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol) at a concentration of 0.60 % as a preservative had been experimentally substantiated.

Key words: phytocomplex gel, effect, preservatives, Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol), methyl parahydroxybenzoate (E218), sorbic acid, potassium sorbate, benzoic acid.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 306–313

Изучение эффективности антимикробного консерванта при обосновании состава дерматологического геля с фитокомплексом

В. С. Миргород, А. Г. Башура, О. П. Стрилец, С. Г. Бобро, Л. С. Стрельников

Микробиологическая стабильность лекарственных средств всегда требует пристального внимания на этапе фармацевтической разработки состава, поскольку микробное загрязнение может представлять угрозу и для здоровья пациента, и для стабильности лекарственного средства. Уровень микробного загрязнения можно контролировать путем мониторинга качества исходного сырья, соблюдения соответствующей санитарной обработки производственных помещений и оборудования, использования научно обоснованного консервирующего вещества в составе препарата.

Цель работы – обоснование использования консервирующего вещества и его концентрации в составе разрабатываемого геля с фитокомплексом.

Материалы и методы. Объекты исследования – образцы геля с добавлением консервирующих веществ: Euxyl 9010K (90 % феноксиэтанол, 10 % этилгексилглицерин), метилпарагидроксибензоата (E218), сорбиновой кислоты, сорбата калия, бензойной кислоты. Использовали концентрации антимикробных веществ, отвечающих их среднему значению от диапазона используемых концентраций. В ходе исследований использовали методику оценки эффективности антимикробных консервантов, представленную в ГФУ 2.0.

Результаты. Экспериментальные исследования с использованием консервантов Euxyl 9010K 0,60 %, метилпарагидроксибензоата 0,25 %, сорбиновой кислоты 0,10 %, сорбата калия 0,25 %, бензойной кислоты 0,15 % в составе образцов разрабатываемого геля с фитокомплексом показали: результаты для всех образцов полностью соответствуют требованиям ГФУ к лекарственным препаратам для наружного применения по показателю антимикробной эффективности консервантов. По результатам первого этапа исследований, наибольшую антимикробную эффективность показал образец с консервантом Euxyl 9010K. Предмет второго этапа – обоснование концентрации Euxyl 9010K (0,45 %, 0,60 % и 0,75 %); установлено, что образцы геля с концентрациями Euxyl 9010K 0,60 % и 0,75 % соответствуют требованиям ГФУ к лекарственным препаратам для наружного применения по показателю антимикробной эффективности консервантов. Образец с концентрацией Euxyl 9010K 0,45 % также соответствует требованиям, но логарифм уменьшения количества жизнеспособных клеток бактерий *Pseudomonas aeruginosa* через 2 суток хранения составляет 2,00, что отвечает предельным значениям по ГФУ.

Выводы. Экспериментально обоснована целесообразность использования в качестве консерванта Euxyl 9010K (90 % феноксиэтанол, 10 % этилгексилглицерин) в концентрации 0,60 %.

Ключевые слова: гель с фитокомплексом, эффект, консерванты, Euxyl 9010K (90 % феноксиэтанол, 10 % этилгексилглицерин), метилпарагидроксибензоат (E218), сорбиновая кислота, сорбат калия, бензойная кислота.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 306–313

М'які лікарські засоби, як і будь-які продукти, що містять воду та суміш органічних і неорганічних сполук, потребують захисту від микробного забруднення, щоб гарантувати безпеку для пацієнта та забезпечити якість під час зберігання, використання засобу. Це забезпечується хімічними, фізичними або фізико-хімічними стратегіями. Найпоширеніша стратегія ґрунтується на застосуванні антимікробних засобів, що можуть бути

синтетичними, природними сполуками чи навіть багатофункціональними інгредієнтами. Консерванти, які широко застосовують у фармацевтичній практиці консервації м'яких лікарських засобів: метилпарагидроксибензоат (E218), пропілпарагидроксибензоат (E216), натрію метилпарабен (E219), натрію пропілпарабен (E217), этилпарагидроксибензоат (E214), калію сорбат (E202), натрію сульфат безводний (E221), спирт бензиловий, бензал-

конію хлорид, хлоргексидину глюконат, феноксіетанол, кислота сорбінова, цетримід, цетилпіридинію хлорид, хлоралгідрат, хлоркрезол [1–3]. Ці хімічні агенти мають різні механізми протимікробної дії залежно від хімічної структури та реакційної здатності функціональної групи. Консерванти діють на кілька клітинних мішеней, однак можуть мати токсичний ефект для пацієнта; їх використання у високих концентраціях є ефективнішим для збереження продукту, але потенційно токсичне для пацієнта, а при низьких концентраціях може розвиватись мікробна резистентність [4,5]. Тому питанню щодо обґрунтування концентрації антимікробних речовин у складі лікарських засобів приділяють особливу увагу.

Системний підхід до організації стратегії консервації полягає в забезпеченні, використанні валідованих технологічних процесів згідно з Належною виробничою практикою (GMP), контролі вихідної сировини та підтвердженні ефективності консерванта за допомогою відповідних методологій [6,7]. Мікробне забруднення може виникнути під час виробництва (первинне забруднення) та/або під час використання (вторинне забруднення). Ідеальна система консервації повинна захищати продукт від мікробної деградації в закритому пакуванні до використання та у відкритому пакуванні протягом усього терміну використання. Усі потенційні джерела забруднення мають бути ідентифіковані та контрольовані [8]. Для цього треба визначити основні етапи, коли є висока ймовірність виникнення ризику для мікробіологічної стабільності лікарського засобу: перевірка, контроль сировини, виробничий процес, система контейнер/закупорювальний засіб та умови використання засобу пацієнтом.

На кафедрі косметології і ароматології Національного фармацевтичного університету здійснюється наукова робота з розроблення складу гелю з фітокомплексом для лікування дерматологічних захворювань. Фітокомплекс складається з чабрецю екстракту сухого з сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин і суху речовину 0,035 г, кропиви екстракту сухого з сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину 0,020 г, горіха листя екстракту сухого з сумою танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину 0,030 г. Один з етапів фармацевтичної розробки, коли закладається стратегія захисту фармацевтичного препарату від мікробного забруднення, – обґрунтування необхідності використання антимікробних речовин [9]. Для цього здійснили мікробіологічні дослідження, результати яких наведені у статті.

Мета роботи

Обґрунтування вибору консерванта та його концентрації під час розроблення складу гелю з фітокомплексом для забезпечення мікробіологічної стабільності. Дослідити ефективність використання у складі гелю антимікробних консервантів Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксibenзоат (E218, метилпарабен), кислота сорбінова, калію сорбат, кислота бензойна.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкти досліджень – 6 зразків гелю з фітокомплексом з додаванням одного з обраних для дослідження консервантів. Використали концентрації антимікробних речовин, що відповідають їхньому середньому значенню від діапазону застосованих концентрацій [10,11]. Для мікробіологічних досліджень виготовили 6 зразків: № 1 – гель без консерванта; № 2 – гель + Euxyl 9010K 0,60 %; № 3 – гель + метилпарагідроксibenзоат 0,25 %; № 4 – гель + сорбінова кислота 0,10 %; № 5 – гель + сорбат калію 0,25 %; № 6 – гель + бензойна кислота 0,15 %.

Під час досліджень використовували методику ДФУ 2.0 (Т.1, п. 5.1.3, с. 773) «Ефективність антимікробних консервантів» [12]. Зміст методу полягає в тому, що в зразки гелю, які містяться в первинному пакуванні, додають заздалегідь відому кількість тест-мікроорганізмів, зберігають у захищеному від світла місці за температури 20–25 °С. Після інокуляції та через наведені у ДФУ проміжки часу (для засобів зовнішнього застосування – 2, 7, 14 і 28 діб) з інокульованих зразків гелю відбирають проби (1,0 г) для визначення кількості життєздатних мікроорганізмів.

Дослідження здійснили в асептичних умовах, які забезпечували використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки AC2-4E1 «Eisco», Індонезія).

Як тест-мікроорганізми використали *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Передусім проводили досліди на відповідність ростових властивостей поживних середовищ (кількість колоній, що вирости, при посіві відповідної кількості мікроорганізмів). Для цього поживні середовища інокулювали малою кількістю тест-штамів мікроорганізмів ($10\text{--}10^2$ колоній/утворювальних одиниць на мл середовища – КУО/мл). Вихідну культуру кожного з тест-мікроорганізмів пересівали на поверхню густого соєво-казеїнового живильного середовища при вирощуванні бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*); при вирощуванні грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) пересівали на густе живильне Сабуро-декстрозне середовище без додавання антибіотиків. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

За даними таблиці 1, морфологія колоній при культивуванні на поживних середовищах і морфологія клітин при мікроскопії типова, всі культури мікроорганізмів відповідають таксономічному позначенню штаму, а отже і вимогам щодо ростових властивостей поживних середовищ.

Для приготування культур тест-мікроорганізмів здійснили висіви бактерій на поверхню щільного поживного соєво-казеїнового середовища; коли висівали гриби, використовували Сабуро-декстрозне поживне середовище (без додавання антибіотиків). Культури бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* інкубували за температури 30–35 °С протягом 18–24 год у термостаті TCO-80, культуру *Candida albicans* – протягом

Таблиця 1. Рівні властивості поживних середовищ

Тест-штами мікроорганізмів	Поживні середовища	Умови культивування		Висновок
		температура, °C	термін культивування, години	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	соево-казеїновий агар	30–35 °C	24–72	морфологія колоній і клітин типова
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	соево-казеїновий агар	30–35 °C	24–72	морфологія колоній і клітин типова
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	Сабуро-декстрозний агар	20–25 °C	24–120	морфологія колоній і клітин типова
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Сабуро-декстрозний агар	20–25 °C	24–120	морфологія колоній і клітин типова

2–3 діб за температури 20–25 °C, культуру *Aspergillus brasiliensis* – 7 діб за температури 20–25 °C.

Суспензії бактеріальних культур і культури гриба *Candida albicans* готували шляхом змивання мікробної маси з поверхні поживного середовища стерильним суспендувальним розчином, який містив 9 г/л натрію хлориду Р. У цій суспензії доводили вміст мікроорганізмів до 10^8 клітин у мл, зберігаючи суспензію у стерильній пробірці. Для приготування суспензії культури *Aspergillus brasiliensis* використовували стерильний суспендувальний розчин, який містив 9 г/л натрію хлориду Р і 0,5 г/л полісорбату-80 Р, доводили вміст спор до 10^8 у мл. Одразу після приготування кожної суспензії відбирали пробу та визначали кількість колонійутворювальних одиниць (КУО) в 1 мл кожної суспензії шляхом прямого висіву на чашки Петрі на щільні поживні середовища, які використовували для початкового вирощування тест-культур.

У кожний зразок гелю з фітокомплексом вносили суспензію тест-мікроорганізмів із навантаженням 10^8 КУО в 1 мл. У самому зразку мікробне навантаження має становити від 10^5 КУО/мл до 10^6 КУО/мл.

Ефективність антимікробних консервантів оцінювали шляхом визначення логарифма (lg) зменшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів за певний період зберігання після контамінації зразків гелю. Відповідно до ДФУ, в засобах для зовнішнього використання логарифм зменшення числа життєздатних клітин бактерій через 2 доби повинен становити не менше ніж 2, через 7 діб – не менше ніж 3, надалі кількість життєздатних клітин бактерій не повинна збільшуватися. Логарифми зменшення кількості життєздатних клітин грибів за 14 діб мають становити не менше ніж 2.

Після інокуляції мікроорганізмами зразки (навантаження 10^5 – 10^6 КУО/мл) ретельно перемішували для рівномірного розподілення мікроорганізмів, з кожного зразка відбирали проби: відразу після обсіменіння та через певні інтервали часу (2, 7, 14, 28 діб), методом прямого посіву висівали на агаризовані поживні середовища на чашки Петрі для визначення кількості життєздатних мікроорганізмів і розрахунку логарифма їхнього зменшення.

Зразки лікарської форми без консервантів № 1 також інокулювали культурами мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 і зберігали протягом 28 діб.

Результати

План експерименту побудований із двох етапів: перший – визначення найбільш ефективної речовини-консерванта; другий – обґрунтування її оптимальної ефективної концентрації. Результати першого етапу з дослідження антимікробної ефективності обраних для дослідження консервантів Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксибензоат (E218, метилпарабен), сорбінова кислота, сорбат калію, бензойна кислота наведено в таблиці 2.

Результати другого етапу з обґрунтування ефективної концентрації консерванта, який показав кращі результати на попередньому етапі досліджень, а саме дослідження антимікробної ефективності консерванта Euxyl 9010K у концентраціях 0,45 %, 0,60 %, 0,75 % наведено в таблиці 3.

Обговорення

Експериментальні дані (табл. 2) свідчать, що зразок гелю без консерванта № 1 не відповідає вимогам ДФУ, оскільки логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій (*Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*) менше ніж 2,0 і 3,0 через 2 і 7 діб відповідно. Для клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках за вимогами ДФУ має бути не менше ніж 2,0, а у зразку № 1 – 1,85 (*Candida albicans*) і 1,78 (*Aspergillus brasiliensis*), що також не відповідає вимогам. Отже, результати, що наведені в таблиці 2, та відсутність у зразка № 1 антимікробної активності доводять необхідність додавання антимікробних консервантів до складу гелю.

За даними таблиці 2, після 2 діб зберігання інокульованих зразків гелів із різними консервантами логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій культури *Staphylococcus aureus* дорівнював понад 2,0 для всіх зразків: з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2) – 3,76; з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3) – 3,02; з сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4) – 2,35; з сорбатом калію 0,25 % (№ 5) – 2,96; з бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) – 2,80.

Для культури *Pseudomonas aeruginosa* після 2 діб зберігання зразків логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів становив більше ніж 2 для всіх зразків: з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2) – 3,06; із метилпарагідрокси-

Таблиця 2. Результати дослідження антимікробної ефективності консервантів у зразках гелів

Тест-культури мікроорганізмів	Номер зразка	Консервант, концентрація (%)	Мікробне навантаження після інюляції, Ig КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження (вимоги ДФУ/зразок)			
				2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	№ 1	без консерванта	5,65	2/0,83	3/1,56	2,15	2,61
	№ 2	Еуху1 9010К, 0,60 %	5,70	2/3,76	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,65	2/3,02	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,75	2/2,35	3/3,32	НВ	Н3/НВ
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,70	2/2,96	3/3,44	НВ	Н3/НВ
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,75	2/2,80	3 /3,38	НВ	Н3/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	№ 1	без консерванта	5,50	2/0,85	3/1,55	1,85	2,68
	№ 2	Еуху1 9010К, 0,60 %	5,80	2/3,06	3/ 4,47	НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,90	2/2,80	3/4,10	НВ	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,50	2/2,30	3/3,10	НВ	Н3/НВ
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,80	2/2,75	3/3,85	НВ	Н3/НВ
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,50	2/2,70	3/3,55	НВ	Н3/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	№ 1	без консерванта	5,70	0,38	1,65	2/1,85	1,96
	№ 2	Еуху1 9010К, 0,60 %	5,55	2,77	3,55	2/НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,75	1,68	3,10	2/3,55	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,75	1,15	1,98	2/2,10	Н3/Н3
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,80	1,25	2,25	2/3,15	Н3/Н3
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,80	1,19	2,07	2/2,25	Н3/Н3
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	№ 1	без консерванта	5,50	0,95	1,35	2/1,78	1,92
	№ 2	Еуху1 9010К, 0,60 %	5,80	1,69	3,25	2/НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,70	2,01	3,15	2/НВ	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,70	1,35	2,10	2/2,20	Н3/Н3
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,80	1,55	2,75	2/3,55	Н3/Н3
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,60	1,77	2,42	2/3,40	Н3/Н3

НВ: мікроорганізми не виявили; **Н3:** не спостерігали збільшення кількості мікроорганізмів.

Таблиця 3. Результати дослідження антимікробної ефективності консерванта Еуху1 9010К у зразках гелю

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інюляції, Ig КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,45	5,66	2/2,32	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	0,60	5,70	2/3,76	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	0,75	5,68	2/3,74	3/НВ	НВ	Н3/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,45	5,50	2/2,00	3/3,05	НВ	Н3/НВ
	0,60	5,80	2/3,06	3/4,47	НВ	Н3/НВ
	0,75	5,65	2/3,10	3/4,45	НВ	Н3/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0,45	5,69	0,98	1,27	2/2,12	Н3/НВ
	0,60	5,55	2,77	3,55	2/НВ	Н3/НВ
	0,75	5,42	2,69	3,58	2/НВ	Н3/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0,45	5,75	1,22	1,49	2/НВ	Н3/НВ
	0,60	5,66	1,69	3,25	2/НВ	Н3/НВ
	0,75	5,70	1,62	3,28	2/НВ	Н3/НВ

НВ: мікроорганізми не виявили; **Н3:** не спостерігали збільшення кількості мікроорганізмів.

бензоатом 0,25 % (№ 3) – 2,80; із сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4) – 2,30; із сорбатом калію 0,25 % (№ 5) – 2,75; із бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) – 2,70.

На 7 добу не виявили життєздатні клітини мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* у зразках гелів з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3); для зразків із сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4) логарифм зменшення кількості життєздатних клітин становив 3,32; з сорбатом калію 0,25 % (№ 5) – 3,44; з бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) – 3,38. За вимогами ДФУ, логарифм зменшення кількості життєздатних клітин має бути не менше ніж 3,0, а отже зразки відповідали вимогам.

Логарифм зменшення кількості життєздатних клітин *Pseudomonas aeruginosa* у зразках гелів з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) і бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) становив 4,47, 4,10, 3,10, 3,85, 3,55 відповідно (згідно з вимогами ДФУ, має бути не менше ніж 3,0). Отже, за результатами дослідження, зразки відповідають вимогам ДФУ.

На 14 і 28 добу інкубації у зразках з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) і бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) життєздатні мікроорганізми бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* не виявлені.

Для клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках за вимогами ДФУ має дорівнювати не менше ніж 2,0. Дослідження показали, що у зразках гелю з консервантом Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2) життєздатні клітини грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* не виявлені; у зразках гелю з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3) життєздатні клітини грибів *Aspergillus brasiliensis* не виявлені. У зразках гелів із метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) і бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) lg зменшення кількості життєздатних клітин *Candida albicans* становив 3,55, 2,10, 3,15, 2,25 відповідно. Щодо культури *Aspergillus brasiliensis*, то у зразках гелів із сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин дорівнював 2,20, 3,55, 3,40 відповідно (за вимогами ДФУ, має бути не менше ніж 2,0, а отже результати відповідають вимогам).

На 28 добу зберігання інокульованих зразків гелів кількість життєздатних клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* не збільшувалась або життєздатні клітини не виділяли в жодному зі зразків з усіма консервантами: Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5), бензойною кислотою 0,15 % (№ 6).

Отже, експерименти з використанням консервантів Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоату 0,25 % (№ 3), сорбінової кислоти 0,10 % (№ 4), сорбату

калію 0,25 % (№ 5), бензойної кислоти 0,15 % (№ 6) у складі зразків гелю з фітокомплексом показали: результати для всіх зразків повністю відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

Серед зразків, які вивчали, найбільшу антимікробну ефективність мав зразок із консервантом Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2). Далі за антимікробною ефективністю консервантів зразки відповідають такій послідовності: з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбатом калію 0,25 % (№ 5), бензойною кислотою 0,15 % (№ 6), найменшу активність мали зразки з консервантом сорбіновою кислотою 0,1 % (№ 4). Втім дослідження показали, що зразки з усіма обраними антимікробними консервантами відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

На другому етапі експерименту здійснили дослідження для визначення мінімальної ефективної концентрації консерванта Euxyl 9010K. Для цього виготовили зразки гелів із фітокомплексом із концентраціями Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 %, 0,75 %, визначили антимікробну ефективність консерванта в цих зразках. Результати наведені в таблиці 3.

За даними таблиці 3, після 2 діб зберігання інокульованих зразків гелів із різними концентраціями консерванта Euxyl 9010K логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій становив більше ніж 2,0 для культури *Staphylococcus aureus* – 2,32 (концентрація Euxyl 9010K 0,45 %), 3,76 (концентрація Euxyl 9010K 0,60 %) і 3,74 (Euxyl 9010K 0,75 %).

Для культури *Pseudomonas aeruginosa* логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів із консервантом Euxyl 9010K 0,45 % дорівнював 2,0 (граничне значення), для зразків гелю з концентрацією Euxyl 9010K 0,60 % цей показник становив 3,06, з Euxyl 9010K 0,75 % – 3,10.

На 7 добу життєздатні клітини мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* у зразках гелів із концентрацією Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 % і 0,75 % не виявлено (за вимогами ДФУ, логарифм зменшення має бути не менше ніж 3,0). Логарифм зменшення кількості життєздатних клітин *Pseudomonas aeruginosa* у зразках становив не менше ніж 3,0 (за вимогами ДФУ): з Euxyl 9010K 0,45 % дорівнював 3,05, Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % – 4,47 і 4,45 відповідно; це відповідає вимогам ДФУ.

На 14 і 28 добу інкубації в інокульованих зразках із концентраціями Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 % і 0,75 % життєздатні мікроорганізми бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* не виявили.

Для клітин грибів *Candida albicans* на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках з Euxyl 9010K 0,45 % становив 2,12 (за вимогами ДФУ, не менше ніж 2,0). У зразках гелю з Euxyl 9010K 0,60 % та Euxyl 9010K 0,75 % життєздатні клітини грибів *Candida albicans* не виявили. Для культури *Aspergillus brasiliensis* на 14 добу у зразках з Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 % та 0,75 %

життєздатні клітини не виявили. На 28 добу зберігання інокульованих зразків гелів життєздатні клітини грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* не виявлені в жодному зі зразків із консервантом Euxyl 9010K у концентраціях 0,45 %, 0,60 %, 0,75 %.

Отже, експерименти з використанням консерванта Euxyl 9010K із концентраціями 0,45 %, 0,60 % і 0,75 % у складі розроблюваного препарату (гелю) показали: результати для зразків із концентраціями Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

Результати дослідження зразка з консервантом Euxyl 9010K 0,45 % показали, що вони також відповідають вимогам ДФУ до антимікробної ефективності консервантів, але логарифм зменшення кількості життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas aeruginosa* через 2 доби зберігання становить 2,00, а це граничне значення за ДФУ щодо лікарських препаратів для зовнішнього застосування.

Встановлено, що зразки гелю з консервантом Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % перспективні для розроблення гелю з фітокомплексом [13,14]. Найбільш прийнятним антимікробним консервантом за результатами досліджень вважаємо зразок гелю з Euxyl 9010K у концентрації 0,60 %. Це зумовлено його вищою антимікробною активністю щодо деяких культур мікроорганізмів або активністю майже на рівні зразка з Euxyl 9010K 0,75 %, а отже збільшення концентрації консерванта до 0,75 % недоцільне.

Висновки

1. Здійснили мікробіологічні дослідження з вивчення антимікробної ефективності консервантів Euxyl 9010K (90 % феноксістанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксibenзоат (E218), сорбінова кислота, сорбат калію, бензойна кислота під час розроблення складу гелю з фітокомплексом для лікування дерматологічних захворювань.

2. Експериментально обґрунтували доцільність використання як консерванта Euxyl 9010K у концентрації 0,60 %.

Перспективи подальших досліджень. Гель із фітокомплексом перебуває на етапі комплексних фармакологічних, біофармацевтичних, хімічних і технологічних досліджень для впровадження в серійне промислове виробництво.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Національного фармацевтичного університету: «Створення лікувально-косметичних засобів», № держреєстрації 0103U000482.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Миргород В. С., аспірантка каф. косметології і ароматології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: [0000-0001-2345-6789](https://orcid.org/0000-0001-2345-6789)

Башура О. Г., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. косметології і ароматології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-1896-9904](https://orcid.org/0000-0003-1896-9904)

Стрілець О. П., д-р фарм. наук, професор каф. біотехнології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-0846-8663](https://orcid.org/0000-0003-0846-8663)

Бобро С. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. косметології і ароматології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7933-107X](https://orcid.org/0000-0001-7933-107X)

Стрельников Л. С., д-р фарм. наук, професор каф. біотехнології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-0883-470X](https://orcid.org/0000-0002-0883-470X)

Information about authors:

Myrhorod V. S., PhD-student of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Bashura O. H., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Strilets O. P., DSc, Professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Bobro S. H., PhD, Associate Professor of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Strelnykov L. S., PhD, DSc, Professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Сведения об авторах:

Миргород В. С., аспирант каф. косметологии и ароматологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Башура О. Г., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. косметологии и ароматологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Стрилец О. П., д-р фарм. наук, профессор каф. биотехнологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Бобро С. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. косметологии и ароматологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Стрельников Л. С., д-р фарм. наук, профессор каф. биотехнологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Список літератури

- [1] Державний реєстр лікарських засобів України. URL : <http://www.driz.kiev.ua>
- [2] Нормативно-директивні документи МОЗ України. URL : <http://mozdocs.kiev.ua>
- [3] Попова Т. В., Стрілець О. П., Кухтенко Г. П. Обґрунтування вибору консерванта та його концентрації у складі гелю протиалергічної дії. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 4, С. 78-87. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.08>
- [4] Preservatives in Personal Hygiene and Cosmetic Products, Topical Medications, and Household Cleaners in Spain / M. A. Pastor-Nieto, F. Alcántara-Nicolás, V. Melgar-Molero et al. *Actas dermo-sifiliograficas*. 2017. Vol. 108, Iss. 8. P. 758-770. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2017.04.003>
- [5] Nowak K., Jabłońska E., Ratajczak-Wrona W. Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental research*. 2021. Vol. 198. P. 110488. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110488>
- [6] СТ-Н МОЗУ 42-3.4:2020 Лікарські засоби. Настанова з виробництва готових лікарських засобів. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1077282-20#Text>
- [7] СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 Лікарські засоби. Належна виробнича практика. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1023282-20?lang=uk#Text>
- [8] СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9). Вид. офіц. Київ, 2011. 35 с. URL : <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-4-2-2011/>
- [9] СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8). URL : <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-3-0-2011/>
- [10] Handbook of Pharmaceutical Excipients / eds. : P. J. Sheskey, W. G. Cook, C. G. Cable. 8th ed. London : American Pharmacists

- Association, Pharmaceutical Press, 2017. P. 110-772.
- [11] EU No 1223/2009. Commission Regulation (EU) on cosmetic products No 1223/2009. Official Journal of the European Union (30 November 2009). https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/endocrine_disruptors/docs/cosmetic_1223_2009_regulation_en.pdf
- [12] Державна Фармакопея України: в 3 т. / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 1. 1128 с.
- [13] Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics / B. Dréno, T. Zuberbier, C. Gelmetti et al. *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. Vol. 33, Iss. S7, P. 15-24. <https://doi.org/10.1111/jdv.15944>
- [14] Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) – Final version of the opinion on Phenoxyethanol in cosmetic products / W. Lilienblum ; Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*. 2016. Vol. 82. P. 156. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.007>

References

- [1] *Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy* [State Register of Medicines of Ukraine]. <http://www.driz.kiev.ua/>
- [2] *Normatyvno-dyrektyvni dokumenty MOZ Ukrainy* [Regulatory documents of the Ministry of Health of Ukraine]. <http://mozdocs.kiev.ua/liki.php/>
- [3] Popova, T. V., Strilets, O. P., & Kukhtenko, H. P. (2020). Obgruntuvannya vyboru konservanta ta yoho konsentratsii u skladi heliu protyalerhichnoi dii [Justification of preservative choice and its concentration in the composition of anti-allergic action gel]. *Farmatsevtichnyi Zhurnal*, 75(4), 78-87. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.08>
- [4] Pastor-Nieto, M. A., Alcántara-Nicolás, F., Melgar-Molero, V., Pérez-Mesonero, R., Vergara-Sánchez, A., Martín-Fuentes, A., González-Muñoz, P., & de Eusebio-Murillo, E. (2017). Preservatives in Personal Hygiene and Cosmetic Products, Topical Medications, and Household Cleaners in Spain. Conservantes en productos de higiene y cosméticos, medicamentos tópicos y productos de limpieza doméstica en España. *Actas dermo-sifiliograficas*, 108(8), 758-770. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2017.04.003>
- [5] Nowak, K., Jabłońska, E., & Ratajczak-Wrona, W. (2021). Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental research*, 198, 110488. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110488>
- [6] Ministry of Health of Ukraine. (2020). *ST-N MOZU 42-3.4:2020 Likarski zasoby. Nastanova z vyrobnytstva hotovykh likarskykh zasobiv* [ST-N MOH 42-3.4:2020 Drugs. Guideline on manufacture of the finished dosage form]. [in Ukrainian]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1077282-20#Text>
- [7] Ministry of Health of Ukraine. (2020). *ST-N MOZU 42-4.0:2020 Likarski zasoby. Nalezna vyrobnycha praktyka* [ST-N MOH 42-4.0:2020 Drugs. Good manufacturing practice]. [in Ukrainian]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1023282-20?lang=en#Text>
- [8] Ministry of Health of Ukraine. (2020). *ST-N MOZU 42-4.2:2011 Likarski zasoby. Upravlinnia ryzykamy dlia yakosti (ICH Q9)* [ST-N MOHU 42-4.2:2011 Medicinal Products. Quality Risk Management (ICH Q9)]. <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-4-2-2011/> [in Ukrainian].
- [9] Ministry of Health of Ukraine. (2011). *ST-N MOZU 42-3.0:2011 Likarski zasoby. Farmatsevtichna rozrobka (ICH Q8)* [ST-N MOHU 42-3.0:2011 Medicinal Products. Pharmaceutical Development (ICH Q8)]. [in Ukrainian]. <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-3-0-2011/>
- [10] Sheskey, P. J., Cook, W. G., & Cable, C. G. (Eds.). (2017). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (8th ed.). American Pharmacists Association, Pharmaceutical Press.
- [11] Regulation (EC) No 1223/2009. European parliament and of the council of 30 November 2009 on cosmetic products (2009). *Official Journal of the European Union*, L 342/59-L 342/209. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:en:PDF>
- [12] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2014). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (2nd ed., Vol. 1). Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines

- Quality. [in Ukrainian].
- [13] Dréno, B., Zuberbier, T., Gelmetti, C., Gontijo, G., & Marinovich, M. (2019). Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics. *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(S7), 15-24. <https://doi.org/10.1111/jdv.15944>
- [14] Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) & Lilienblum, W. (2016). Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) – Final version of the opinion on Phenoxyethanol in cosmetic products. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 82, 156. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.007>