

УДК 615:014.2:615.454.1:615.262.1:615.281.9

В. І. ГОРЛАЧОВА, Л. І. ВИШНЕВСЬКА

*Національний фармацевтичний університет*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИМІКРОБНИХ КОНСЕРВАНТІВ З МЕТОЮ УДОСКОНАЛЕННЯ СКЛАДУ ЛІКАРСЬКОГО КОСМЕТИЧНОГО ЗАСОБУ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ

*З метою проведення подальшої експериментальної роботи з розробки складу і технології лікувально-косметичного засобу у вигляді крему протизапальної дії досліджена ефективність консервантів натрію бензоату, феноксіетанолу, Euxil PE 9010, гермабену в мінімальних та максимальних концентраціях. У ході роботи експериментально доведено, що всі досліджені консерванти відповідають вимогам ДФУ. За результатами проведеного експерименту обгрунтовано вибір консерванта Euxil PE 9010.*

*Ключові слова:* антимікробні консерванти; лікарський косметичний засіб; Euxil PE 9010; крем

### ВСТУП

Опіки спричиняють загальні або місцеві порушення. Загальні порушення – це порушення діяльності ключових систем організму, які характеризуються зниженням функцій серцево-судинної, нервової, видільної та ендокринної систем, послабленням метаболізму. Місцеві порушення характеризуються запаленнями шкіри різного ступеня тяжкості [1].

При лікуванні запальних захворювань шкіри краще застосовувати комплексні препарати, які чинять протизапальну, антимікробну та ранозагоювальну дію [5].

У процесі зберігання та застосування лікарських засобів, зокрема й лікарських косметичних засобів, для запобігання розмноження мікроорганізмів і грибів до їх складу вводять антимікробні консерванти [3, 4, 6].

Отже, метою нашого експерименту стало дослідження ефективності антимікробних консервантів для розробки складу і технології лікарського косметичного засобу протизапальної дії у вигляді крему.

Дослідження проводилося на базі Інституту імунології і мікробіології ім. І. І. Мечникова НАМН України під керівництвом Т. П. Осолодченко.

При виборі оптимального консерванта нами було враховано, що поряд з антимікробною дією він має бути максимально безпечним навіть для дитячої шкіри, мати широкий діапазон рН, сприяти зволоженню поверхні шкіри, забезпечувати стабільність готового засобу і бути економічно вигідним.

### МЕТОДИ ТА ОБ'ЄКТИ

У процесі вибору консерванта нами були досліджені зразки крему з різними консервантами у їх мінімальних і максимальних рекомендованих концентраціях: натрію бензоат 0,5 та 1 %, феноксіетанол 0,5 та 1 %, Euxil PE 9010 0,5 та 1 %, гермабен 0,8 та 1,5 %.

При дослідженнях використовували методику оцінки ефективності антимікробних консервантів, наведену в ДФУ. Критерієм оцінки антибактеріальної ефективності консервантів вважається зменшення або хоча б не збільшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів за певний період після контамінації готового засобу. Відповідно до вимог ДФУ у препаратах для місцевого застосування логарифм зменшення (lg) кількості життєздатних мікроорганізмів по відношенню до певної вихідної кількості клітин через 2 доби має становити не менше 2-х, через 7 діб – не менше 3-х, у подальшому кількість життєздатних клітин бактерій не повинна збільшуватися (через 28 діб). Логарифм зменшення кількості життєздатних клітин грибів за 14 діб має становити не менше 2-х і за 28 діб не повинен збільшуватись. Ці показники відповідають критерію «А».

Відповідно до критерію «В» у препаратах для місцевого застосування логарифм зменшення кількості життєздатних бактерій за 14 діб має складати не менше 3-х, у подальшому (28 діб) кількість життєздатних бактерій не повинна збільшуватися. Логарифм зменшення кількості життєздатних грибів за 14 діб має складати не менше 1 і в подальшому (28 діб) не збільшуватися. Наявність життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів на 28 добу дослідження свідчить про те, що препарат не відповідає критеріям «А» або «В» і вимогам Державної фармакопеї України [2].

© Горлачова В. І., Вишнеvsька Л. І., 2016

Таблиця 1

**АНТИМІКРОБНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОНСЕРВАНТА НАТРІЮ БЕНЗОАТУ  
В ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗРАЗКАХ КРЕМУ**

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Зменшення вихідного мікробного навантаження, lg (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,5	5,47	2/3,0	3/НВ	НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,66	2/3,12	3/4,66	НВ	НЗ/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,5	5,74	2/2,57	3/4,44	НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,69	2/2,3	3/4,39	НВ	НЗ/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0,5	5,39	1,22	3,22	2/НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,39	1,92	3,39	2/3,7	НЗ/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0,5	5,66	1,22	2,57	2/НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,69	1,27	3,22	2/НВ	НЗ/НВ

Примітка: НВ – мікроорганізми не виявляються; НЗ – не спостерігається збільшення кількості мікроорганізмів.

Згідно з цією методикою у зразки крему з різними консервантами, які знаходились у первинному пакуванні, вносили певну кількість тест-мікроорганізмів і зберігали їх у темному місці при певній температурі, після чого висівали досліджувані зразки на поверхню густого поживного середовища для визначення життєздатних клітин. Дослідження проводили в динаміці: у свіжовиготовлених зразках та через 2, 7, 14 і 28 діб.

У роботі як тест-мікроорганізми використовували *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Перед дослідженнями проводили досліди на відповідність ростових властивостей поживних середовищ. Поживні середовища інокулювали невеликою кількістю тест-штамів мікроорганізмів ( $10^8$ - $10^2$  колонієутворювальних одиниць на мл середовища – КУО/мл). Вихідну культуру кожного із зазначених тест-мікроорганізмів пересівали на поверхню густого соєво-казеїнового поживного середовища при вирощуванні бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), а при вирощуванні грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) – на густе поживне Сабуро-декстрозне середовище без додавання антибіотиків (відповідно до вимог ДФУ).

Культури бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* інкубували у термостаті при температурі 30-35 °С протягом 18-24 год, культуру *Candida albicans* – при температурі 20-25 °С протягом 2-3 діб, культуру *Aspergillus brasiliensis* – при температурі 20-25 °С протягом 7 діб.

Для приготування суспензій бактеріальних культур і культури гриба *Candida albicans* мікробну масу змивали з поверхні поживного середовища стерильним суспендувальним розчином, що містить 9 г/л натрію хлориду Р, переносили у стерильну пробірку і

доводили вміст мікроорганізмів до  $10^8$  клітин у мл. При приготуванні суспензії культури *Aspergillus brasiliensis* використовували стерильний суспендувальний розчин, який містить 9 г/л натрію хлориду Р і 0,5 г/л полісорбату-80 Р, і доводили вміст спор до об'єму  $10^8$  у мл. Із кожної суспензії зразу після її приготування відбирали пробу і визначали кількість КУО в 1 мл кожної суспензії шляхом прямого висівання на чашки Петрі зі щільними поживними середовищами, які використовували для початкового вирощування тест-культур.

До кожного зразка крему, що досліджувався, вносили суспензію із вмістом тест-мікроорганізмів з навантаженням  $10^8$  КУО в 1 мл. У самому зразку мікробне навантаження мало становити від  $10^5$  до  $10^6$  КУО/мл.

Результати оцінювали за lg зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення ефективності антимікробних консервантів наведені в табл. 1-4.

Результати, наведені у табл. 1, свідчать про те, що через 2 доби зберігання інокульованих зразків кремів lg зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій був більше 2,0 і склав для *Staphylococcus aureus* 3,0 (концентрація натрію бензоату 0,5 %) і 3,12 (натрію бензоату 1,0), для *Pseudomonas aeruginosa* – 2,57 (натрію бензоату 0,5 %) і 2,3 (натрію бензоату 1,0 %). На 7-у добу життєздатні клітини мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* у зразку крему з концентрацією натрію бензоату 0,5 % не виділялися, а з консервантом 1 % логарифм зменшення кількості клітин склав 4,66 (за вимогами ДФУ логарифм зменшення має бути не менше 3,0). Тоді як логарифм зменшення кількості життєздатних клітин *Pseudomonas aeruginosa* у зразках з натрію бен-

Таблиця 2

## ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИМІКРОБНОГО КОНСЕРВАНТА ФЕНОКСІЕТАНОЛУ У ЗРАЗКАХ КРЕМУ

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Зменшення вихідного мікробного навантаження, lg (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,5	5,39	2/2,85	3/3,39	НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,54	2/3,0	3/НВ	НВ	НЗ/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,5	5,74	2/2,09	3/3,09	4,05	НЗ/НВ
	1,0	5,74	2/2,57	3/4,05	НВ	НЗ/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0,5	5,66	1,27	2,49	2/3,49	НЗ/НВ
	1,0	5,39	1,22	3,22	2/НВ	НЗ/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0,5	5,47	1,27	3,0	2/НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,39	1,92	3,12	2/НВ	НЗ/НВ

Примітка: НВ – мікроорганізми не виявляються; НЗ – не спостерігається збільшення кількості мікроорганізмів.

Таблиця 3

## ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИМІКРОБНОГО КОНСЕРВАНТА EUXYL PE 9010 У ЗРАЗКАХ КРЕМУ

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Зменшення вихідного мікробного навантаження, lg (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,5	5,74	2/3,44	3/4,05	НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,74	2/3,74	3/НВ	НВ	НЗ/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,5	5,74	2/2,57	3/3,74	НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,74	2/2,74	3/4,44	НВ	НЗ/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0,5	5,54	1,24	3,37	2/НВ	НЗ/НВ
	1,0	5,74	2,57	3,57	2/4,05	НЗ/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0,5	5,39	1,27	2,49	2/3,97	НЗ/НВ
	1,0	5,66	1,49	3,12	2/НВ	НЗ/НВ

Примітка: НВ – мікроорганізми не виявляються; НЗ – не спостерігається збільшення кількості мікроорганізмів.

зоатом 0,5 % становив 4,44, у зразках з натрію бензоатом 1 % – 4,39. На 14-у та 28-у добу інкубації в зразках з концентраціями натрію бензоату 0,5 і 1,0 % життєздатні мікроорганізми бактерій не реєструвалися. Для клітин грибів *Candida albicans* на 14-у добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках з натрію бензоатом 1,0 % склав 3,70 (за вимогами не менше 2,0). Поряд з тим у зразках крему з натрію бензоатом 0,5 % життєздатні клітини грибів *Candida albicans* не виявлялися. Для культури *Aspergillus brasiliensis* на 14-у добу життєздатні клітини у зразках з натрію бензоатом як 0,5 %, так і 1,0 % не були виявлені. На 28-у добу життєздатні клітини грибів і бактерій не виділялися в жодному із зразків крему з дослідженими консервантами.

Отже, проведені експерименти з використанням консерванта натрію бензоату в концентраціях 0,5 і 1,0 % у складі лікувально-профілактичного крему показали, що отримані результати відповідають вимогам ДФУ (критерій «А») за показником «антимік-

робна ефективність консервантів» до лікарських препаратів для зовнішнього застосування

Як видно з табл. 2, на 2-гу, 7-му добу інкубації зразків крему з мінімальною (0,5 %) та максимальною (1,0 %) концентрацією консерванта феноксіетанолу lg зменшення життєздатних клітин бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* склав більше, ніж за вимогами ДФУ, а це свідчить, що досліджувані зразки відповідають критерію «А» ДФУ. Відносно культур грибів на 14-ту добу lg зменшення клітин *Candida albicans* для зразків з феноксіетанолом 0,5 % склав 3,49, у зразках з феноксіетанолом 1,0 % життєздатні клітини не виявлені. При дослідженні зразків крему інокульованих *Aspergillus brasiliensis* на 14-ту добу життєздатні клітини не виявлені. Отримані результати показали, що зразки з консервантом феноксіетанолом повністю відповідають вимогам ДФУ.

За результатами даних, наведених у табл. 3, можна зробити висновок, що досліджувані зразки крему

Таблиця 4

**ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИМІКРОБНОГО КОНСЕРВАНТА ГЕРМАБЕНУ У ЗРАЗКАХ КРЕМУ**

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Зменшення вихідного мікробного навантаження, lg (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,8	5,39	2/3,0	3/НВ	НВ	НЗ/НВ
	1,5	5,66	2/3,49	3/НВ	НВ	НЗ/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,8	5,74	2/2,57	3/4,05	НВ	НЗ/НВ
	1,5	5,74	2/2,35	3/4,05	НВ	НЗ/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0,8	5,66	1,27	3,12	2/3,97	НЗ/НВ
	1,5	5,66	1,27	2,49	2/3,97	НЗ/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0,8	5,36	1,35	2,49	2/НВ	НЗ/НВ
	1,5	5,54	1,27	НВ	2/НВ	НЗ/НВ

Примітка: НВ – мікроорганізми не виявляються; НЗ – не спостерігається збільшення кількості мікроорганізмів.

з консервантом Euxyl PE 9010 в обох концентраціях (0,5 і 1,0 %) відповідають вимогам ДФУ (критерій класу «А») стосовно як клітин мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*, так і грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis*

Отримані результати, наведені у табл. 4, свідчать про те, що ефективність консерванта гермабену в обох концентраціях у складі лікувально-профілактичного крему відповідає критерію «А» згідно з вимогами ДФУ для лікарських препаратів для зовнішнього застосування.

Результати проведених досліджень (табл. 1-4) показали досить високу ефективність усіх обраних антимікробних консервантів, але для подальших робіт з розробки складу крему було обрано Euxyl PE 9010, оскільки у порівнянні з іншими консервантами є одним з найбезпечніших, не містить парабенів, досить зручний у технологічному плані – його можна додавати в кінці виготовлення засобу і в готовий препарат. Крім того, в Euxyl PE 9010 досить широкий діапазон рН. Також він є економічно вигідним. Все це буде використано при подальшій розробці оптимальної технології виробництва лікувально-профілактичного крему протизапальної дії.

**ВИСНОВКИ**

1. Проведені мікробіологічні дослідження показали, що всі обрані консерванти, а саме натрію бензоат, феноксіетанол, Euxyl PE 9010, гермабен, які використовувалися у складі крему, показали високу антимікробну ефективність і повністю відповідали вимогам ДФУ (критерій «А») до лікарських препаратів для зовнішнього застосування.
2. Як найбільш перспективний для подальших робіт був обраний консервант Euxyl PE 9010, оскільки він є найбільш безпечним, відрізняється зручністю застосування і привабливою ціною.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ****ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Герасимова Л. И. Острая ожоговая токсемия / Л. И. Герасимова // Патофизиология крови. Экстремальные состояния: [сб. работ] / Под ред. А. И. Воробьева, Н. А. Горбуновой. – М.: Триада Фарм, 2004. – С. 92-103.
2. Державна фармакопея України // Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 4. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2011. – 536 с.
3. Жемерова Е. Г., Кобзарь А. И., Хованская Н. П. К вопросу контроля микробиологической чистоты лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ. Сообщение 1. Проверка пригодности методик определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов / Е. Г. Жемерова, А. И. Кобзарь, Н. П. Хованская // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 51-55.
4. Колісник Я. І. Визначення антимікробної та протигрибової активності компонентів нового лікарського сиропу «Інспірон» / Я. І. Колісник, Н. Б. Сковичас // Біологічні студії. – 2009. – Т. 3, № 2. – С. 65-70.
5. Кошова О. Ю. Експериментальне дослідження фармакологічної активності та деяких токсикологічних параметрів крему з екстрактом листя горіха волоського / [О. Ю. Кошова, Т. Д. Губченко, Є. М. Горбань та ін.] // Клінічна фармація. – 2010. – Т. 14, № 1. – С. 30-34.
6. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководство по качеству. Рекомендации РИС/С / Под ред. Н. А. Ляпунова. – К.: МОРИОН, 2001. – 472 с.
7. Пешук Л. В., Бавіка Л. І., Демідов І. М. Технологія парфумерно-косметичних продуктів. – К.: Центр навчальної літератури, 2007. – 376 с.

**УДК 615:014.2:615.454.1:615.262.1:615.281.9****В. И. Горлачёва, Л. И. Вишневская****ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИМИКРОБНЫХ КОНСЕРВАНТОВ С ЦЕЛЬЮ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СОСТАВА ЛЕЧЕБНОГО КОСМЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА В ВИДЕ КРЕМА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ**

С целью проведения дальнейшей экспериментальной работы по разработке состава и технологии лечебного косметического средства в виде крема противовоспалительного действия исследована эффективность консервантов натрия бензоата, феноксиэтанола, Euxyl PE + 9010, гермабена в минимальных и максимальных концентрациях. В ходе работы экспериментально доказано, что почти все исследованные консерванты отвечают критерию «А». Обоснован выбор консерванта Euxyl PE 9010.

**Ключевые слова:** антимикробные консерванты; лечебное косметическое средство; Euxyl PE 9010; крем

**UDC 615:014.2:615.454.1:615.262.1:615.281.9****V. I. Horlachova, L. I. Vyshnevskia****INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF ANTIMICROBIAL PRESERVATIVES TO IMPROVE THE STRUCTURE OF THE MEDICAL COSMETIC CREAM WITH ANTI-INFLAMMATORY ACTION**

For the purpose of further experimental work on the development of composition and technology of medical and cosmetic products in the form of an anti-inflammatory cream it has been investigated the effectiveness of sodium benzoate, phenoxethanol, Euxyl PE 9010, germaben in their`s minimum and maximum concentrations. In the course of the research it has been experimentally proved that all of the investigated preservatives cover the criterion "A". The choice of preservative Euxyl PE 9010 has been grounded.

**Key words:** antimicrobial preservatives; medical cosmetic; Euxyl PE 9010; cream

*Адреса для листування:*  
61118, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 22.12.2015 р.