

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kekre N., Antin J. // Blood. 2014. 124(3):334–43.
2. Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y. // Cell Signal. 2012. 24(5):981–90.
3. Varo-Ghiuru F., Miclea I., Hettig A. // Cryo Letters. 2015. 36(1): 1–7.
4. Бабійчук Л.О., Грищенко В.І., Гуріна Т.М., та ін. // Патент України № 92227. 2010.
5. Murugesan M., Nair C.K., Nayanar S.K. // Asian J. Transfus. Sci. 2019. 13(1): 43–6.

МІКРОБІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИМІКРОБНИХ КОНСЕРВАНТІВ

О.П. Стрілець, Л.С. Стрельников

Національний фармацевтичний університет
oksanastr1970@gmail.com

М'які лікарські засоби, як і будь-які продукти, що містять воду та суміш органічних і неорганічних сполук, потребують захисту від мікробного забруднення, щоб гарантувати безпеку для пацієнта та забезпечити якість під час використання і зберігання 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 технології м'яких лікарських засобів: метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), натрію метилпарабен (E219), натрію пропілпарабен (E217), етил парагідроксибензоат (E214), калію сорбат (E202), натрію сульфат безводний (E221), спирт бензиловий, бензалконію хлорид, хлоргексидину глюконат, феноксіетанол, кислота сорбінова, цетримід, цетилпіридинію хлорид, хлоралгідрат, хлоркрезол. Ці хімічні агенти мають різні механізми протимікробної дії залежно від хімічної структури та реакційної здатності функціональної групи. Консерванти діють на кілька клітинних мішеней, їх використання у високих концентраціях є ефективнішим для збереження продукту, але може бути і потенційно токсичним для пацієнта, а при низьких концентраціях може розвиватись мікробна резистентність [1, 2]. Тому питанню щодо обґрунтування концентрації антимікробних речовин у складі лікарських засобів приділяють особливу увагу. Мікробне забруднення може виникнути під час виробництва (первинне забруднення) та/або під час використання (вторинне забруднення). Ідеальна система застосування антимікробних консервантів 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. Один з етапів фармацевтичної розробки, коли закладається стратегія захисту фармацевтичного препарату від мікробного забруднення, – обґрунтування необхідності використання антимікробних речовин і визначення їх оптимальних концентрацій [3]. На кафедрі біотехнології Національного фармацевтичного університету була здійснена робота з обґрунтування вибору консерванта та його концентрації у складі гелю з фітокомплексом для лікування дерматологічних захворювань.

Мета. Обґрунтування вибору консерванта та його оптимальної концентрації під час розробки складу гелю з фітокомплексом для забезпечення мікробіологічної стабільності.

Методика. Як об'єкти досліджень використовували 6 зразків гелю з фітокомплексом (екстракт чабрецю, кропиви, горіха) з додаванням одного з обраних для дослідження консервантів (Euxyl 9010K, метилпарагідроксибензоат, кислота сорбінова, калію сорбат, кислота бензойна), контрольний зразок був без консерванту. Концентрації антимікробних речовин були обрані як такі, що відповідають їхньому середньому значенню від діапазону

застосованих концентрацій. Дослідження проводили за методикою ДФУ 2.0 «Ефективність антимікробних консервантів» [4]. Принцип методу полягає у тому, що в зразки готової лікарської форми з різними консервантами і концентраціями, які знаходяться у первинній упаковці, вносили певну кількість тест-мікроорганізмів і зберігали дані зразки при певній температурі (від 20 до 25 °С) у захищеному від світла місці. Безпосередньо після інокуляції і через визначені проміжки часу із інокульованих зразків відбирали проби і визначали число життєздатних мікроорганізмів. Як тест-мікроорганізми використовували *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404. Критерієм оцінки ефективності антимікробних консервантів було визначення логарифму (lg) зменшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів за відповідний період зберігання після контамінації зразків.

Результати та їх інтерпретація. Отримані експериментальні дані показали, що зразок гелю без консерванту не відповідає вимогам ДФУ, оскільки логарифми зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій (*Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*) і грибів (*Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis*) були меншими ніж за вимогами. Отже, результати та відсутність у зразку антимікробної активності довели необхідність додавання антимікробних консервантів до складу гелю.

Експерименти з використанням консервантів Euxyl 9010K 0,60%, метилпарагідроксibenзоату 0,25%, сорбінової кислоти 0,10%, сорбату калію 0,25%, бензойної кислоти 0,15% у складі зразків гелю з фітокомплексом показали, що 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%. Далі за антимікробною ефективністю консервантів зразки відповідали такій послідовності: з метилпарагідроксibenзоатом 0,25%, сорбатом калію 0,25%, бензойною кислотою 0,15%. Найменшу активність мали зразки з консервантом сорбіновою кислотою 0,1%.

На другому етапі експерименту здійснили дослідження для визначення мінімальної ефективної концентрації консерванта Euxyl 9010K. Для цього досліджували зразки гелів із фітокомплексом із концентраціями Euxyl 9010K 0,45%, 0,60%, 0,75%, і визначали антимікробну ефективність консерванта в цих зразках.

Проведені дослідження з використанням консерванта Euxyl 9010K із концентраціями 0,45%, 0,60% і 0,75% у складі гелю показали, що 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 вимогами ДФУ щодо лікарських препаратів для зовнішнього застосування.

Встановлено, що зразки гелю з консервантом Euxyl 9010K у концентраціях 0,60% і 0,75% перспективні для розробки гелю з фітокомплексом. Найбільш прийнятним антимікробним консервантом за результатами досліджень вважається 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% є недоцільне. Таким чином, проведений комплекс мікробіологічних досліджень дозволив експериментально обґрунтувати доцільність використання як консерванта Euxyl 9010K у концентрації 0,60%.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Pastor-Nieto M. A., Alcántara-Nicolás F., Melgar-Molero V. et al. // Actas dermosifilio graficas. 2017. 108: 758-770.

2. Nowak K., Jabłońska E., Ratajczak-Wrona W. // Environmental research. 2021. 198.: 110488.
3. СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8).
4. Державна Фармакопея України: в 3 т. 2014. Т. 1.: 1128.

ВПЛИВ ЖИВИХ КЛІТИН ЕУКАРІОТИЧНОГО ІНДУКТОРА НА БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ІМВ Ас-5017

А.М. Охмакевич¹, Л.В. Ключка¹, Т.П. Пирог²

¹ Національний університет харчових технологій

² Національний університет харчових технологій, Інститут мікробіології
і вірусології НАН України
anastasia01.roza@gmail.com

Вступ. На сьогодні однією із проблем людства є хронічні та гострі інфекційні захворювання, спричинені біоплівками, які часто утворюються катетерах, протезах та імплантах. Перспективними деструкторами бактеріальних та дріжджових біоплівок є поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження завдяки їх антимікробній активності. ПАР, синтезовані бактеріями *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, характеризуються значно нижчою антимікробною активністю порівняно з такою інших відомих поверхнево-активних аміно-, рамно- та софороліпідів [1].

Як показано у попередніх дослідженнях [2], біологічну активність ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 можна підвищити внесенням у середовище культивування живих прокаріотичних клітин *Bacillus subtilis* БТ-2 та *Escherichia coli* ІЕМ-1. Нечисельні літературні дані свідчать про підвищення біологічної активності ПАР мікробного походження у разі використання еукаріотичних індукторів.

Мета роботи полягала у дослідженні біологічної активності поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, синтезованих за наявності живих клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1.

Методика. Культивування продуцента ПАР здійснювали в рідкому мінеральному середовищі, як джерело вуглецю використовували етанол 2% (об'ємна частка). Внесення клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 у середовище здійснювали на початку процесу культивування. Як тест-культури для дослідження біологічної активності ПАР використовували штами бактерій *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2, *B. subtilis* БТ-2, *E. coli* ІЕМ-1 та дріжджів *Candida albicans* Д-6, *Candida utilis* БВС-65 і *S. cerevisiae* БТМ-1 з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій. Концентрацію позаклітинних ПАР визначали ваговим методом після екстракції модифікованою сумішшю Фолча. Антимікробну активність аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Ступінь руйнування бактеріальних біоплівок (%) визначали спектрофотометричним методом як різницю між адгезією клітин тест-культур у необроблених і оброблених препаратами ПАР лунках імунологічного планшета.

Результати та їх інтерпретація. Встановлено, що внесення у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 супроводжувалося синтезом ПАР, які у широкому діапазоні концентрацій (1,25-640 мкг/мл) характеризувалися вищою біологічною активністю, ніж поверхнево-активні речовини, одержані без індуктора.

Так, додавання у середовище культивування *S. cerevisiae* БТМ-1 супроводжувалося синтезом ПАР, МІК яких щодо бактеріальних тест-культур були у 4-7,5 разів нижчими, ніж