

R. A. Costabile // The journal of sexual medicine. – 2012. – N 1. – P. 265–270.

7. Gamidov S. I. Modernity in the treatment of erectile dysfunction: Levitra (vardenafil) in the form of oral dispersible tablet / S. I. Gamidov, V. V. Iremashvili, A. I. Popova // Urologiia. – 2013. – N 3. – P. 102–106.

8. Kloner A. R. Sexual Function in Patients With Chronic Angina Pectoris / A. R. Kloner, L. Henderson // American Journal of Cardiology. – 2013. – Vol. 111, N 11 – P. 1671–1676.

REFERENCES

1. Mashkovsky M.D. *Lekarstvennyie sredstva* [Medicinal preparations]. Moscow, Nova Khvyliia, 2006. 1206 p

2. Bruzziches R., Francomano D., Gari P., Lenzi A., Aversa A. An update

on pharmacological treatment of erectile dysfunction with phosphodiesterase type-5 inhibitors. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2013; 14 (10): 1333–1344.

3. Andersson K.E. Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacol. Res.* 2011; 63 (4): 811–859.

4. Cheng C.L., Kang G.J., Chou C.H. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method using fluorescence detection for the determination of vardenafil in small volumes of rat plasma and bile. *Journal of Chromatography A*. 2007; 1154: 222–229.

5. McNamara E.R., Donatucci C.F. Newer Phosphodiesterase Inhibitors: Comparison with Established Agents.

Urologic Clinics of North America. 2011; 2: 155–163.

6. Lowe G., Costabile R.A. 10-Year analysis of adverse event reports to the food and drug administration for phosphodiesterase type-5 inhibitors. *The Journal of sexual medicine*. 2012; 1: 265–270.

7. Gamidov S.I., Iremashvili V.V., Popova A.I. Modernity in the treatment of erectile dysfunction: Levitra (vardenafil) in the form of oral dispersible tablet. *Urologiia*. 2013; 3: 102–106.

8. Kloner A.R., Henderson L. Sexual Function in Patients With Chronic Angina Pectoris. *American Journal of Cardiology*. 2013; 111 (11): 1671–1676.

Надійшла 3.02.2016

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Я. В. Рожковський

УДК 615.263.63+616.594.1

І. О. Ярема, М. І. Федоровська, Р. В. Куцик

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ АНТИМІКРОБНИХ КОНСЕРВАНТІВ ПРИ РОЗРОБЦІ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ МІСЦЕВОГО ЛІКУВАННЯ АНДРОГЕННОЇ АЛОПЕЦІЇ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»,
Івано-Франківськ, Україна

УДК 615.263.63+616.594.1

И. А. Ярема, М. И. Федоровская, Р. В. Куцик

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА АНТИМИКРОБНОГО КОНСЕРВАНТА ПРИ РАЗРАБОТКЕ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ АНДРОГЕННОЙ АЛОПЕЦИИ

ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», Ивано-Франковск, Украина

Представлены результаты микробиологических исследований по выбору консерванта для обеспечения микробиологической стабильности разработанных лекарственных косметических средств (фитоземulsion и крем-маски) с экстрактом пальмы сабаль и настойкой софоры японской для местного применения при андрогенной алопеции. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности введения в качестве консервантов смеси калия сорбата (0,1 %) и салициловой кислоты (0,1 %). Доказано, что по своей эффективности указанные консерванты соответствуют требованиям критерия А Государственной фармакопеи Украины и обеспечивают высокую микробиологическую чистоту и стабильность препаратов.

Ключевые слова: консерванты, антимикробная активность, эмульсия, крем-маска, андрогенная алопеция.

UDC 615.263.63+616.594.1

I. O. Yarema, M. I. Fedorovska, R. V. Kutsyk

SUBSTANTIATION OF ANTIBACTERIAL PRESERVATIVES CHOICE IN REMEDIES FOR ANDROGENIC ALOPECIA TOPICAL TREATMENT

Ivano-Frankivsk National Medial University, Ivano-Frankivsk Ukraine

Introduction. We have developed a soft dosage forms (emulsion, cream-mask) with Saw Palmetto extract and Sophora Japonica tincture for androgenic alopecia (AA) local application. To ensure microbiological stability during storage period preservatives were administered to the composition of



these drugs. When selecting preservatives it was taken into account not only their effectiveness to wide range of microorganisms, but their ability to provide additional technological and pharmacological parameters of the emulsion and the cream-mask. That is why, potassium sorbate (thickener of carbopol gel), salicylic acid (has keratolytic properties) and their combination were chosen for investigation. Thus, the purpose of the study was the preservative choice and confirmation of its effectiveness in the medicinal cosmetic remedies intended for AA topical treatment.

Materials and methods. The effectiveness of antimicrobial preservatives was determined *in vitro* method according to the Ukrainian State Pharmacopoeia methodology. As the test strains there were used the following microorganisms: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* "Terakov", *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404. Determination of the microorganisms quantity was performed every 2, 7, 14 and 28 days after contamination by the way of counting the colonies number in each Petri dish.

Results and discussion. The conducted research showed that the remedies active substances did not possess antimicrobial properties and even at a minimal level supporting their life activity. Samples with preservative potassium sorbate were resistant to fungi and to a lesser extent to the strains of *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

Preservatives combination of potassium sorbate (0.1%) and salicylic acid (0.1%) provide stronger antibacterial and antifungal effect. After 7 days of storage, in any samples of contaminated drugs there were not revealed bacteria and fungi.

Conclusions. The experimental studies have shown that to undertake the microbiological stability of the emulsion and cream-mask it is necessary to use the antimicrobial preservative.

Potassium sorbate in concentrations of 0.2% provides the necessary preservative effect but on the limit level. Preservative combinations of potassium sorbate and salicylic acid (1:1) — 0.2% have stronger antimicrobial properties and meets the criteria A of antimicrobial effectiveness in remedies for cutaneous application, specified in the Ukrainian State Pharmacopoeia.

Key words: preservative, antimicrobial activity, emulsion, cream-mask, androgenic alopecia.

Вступ

Лікування андрогенної алопеції (АА) сьогодні залишається складним завданням дерматології через обмежений асортимент лікарських препаратів на вітчизняному фармацевтичному ринку [5]. Тому створення нових лікарських засобів рослинного походження, що впливають на патогенез АА та безпечних при тривалому зовнішньому застосуванні, є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки. Нами було розроблено склади емульсії та крем-маски з екстрактом пальми сабаль і настійкою софори японської для місцевого застосування при АА. Діючі речовини екстракту пальми сабаль — фітостероли — при місцевому застосуванні проявляють антиандрогенну дію, гальмують процеси редукції волосяних фолікулів і тим самим перешкоджають випадінню волосся [1]. Флавоноїди та вітамін Р, якими багата настійка софори японської, покращують шкірний кровообіг,

стимулюють живлення волосяних цибулин, підсилюючи дію фітостеролів [6].

Важливою вимогою щодо якості та стабільності препарату є мікробіологічна стабільність, від якої залежать споживчі властивості продукту, його ефективність і безпека. Відомо, що найбільш сприятливими для розвитку мікроорганізмів є м'які лікарські форми з високим вмістом водної фази (гелі, емульсійні системи олія/вода), а також препарати, що містять у своєму складі фітосубстанції. Для запобігання мікробній контамінації препарати місцевої дії виготовляють з дотриманням санітарно-гігієнічних вимог, а також вводять до їх складу антимікробні консерванти. При виборі консервантів враховували їх активність щодо широкого спектра бактерій і патогенних грибів, відсутність токсичної та подразнювальної дії на організм, сумісність з іншими компонентами рецептури та пакувальним матеріалом, розчинність, безпечність для навколишнього се-

редовища, а також стабільність у широкому діапазоні температур і рН [3; 4]. Зазначеним вимогам відповідають консерванти калію сорбат і саліцилова кислота. Окрім консервуючої дії, калію сорбат є загусником для карбополового гелю — компонента основи у розроблених засобах; саліцилова кислота при місцевому застосуванні проявляє кератолітичну дію (сприяє видаленню лупи).

Метою дослідження був вибір консерванта та підтвердження його антимікробної ефективності в складі лікарських косметичних засобів для місцевого лікування АА.

Матеріали та методи дослідження

Ефективність антимікробних консервантів визначали *in vitro* за методикою, наведеною в Державній фармакопеї України (ДФУ) [2]. Для цього в дослідні зразки вводили культури мікроорганізмів і визначали їх кількість через певні проміжки часу. При проведенні випробування як тест-штами ви-



користували такі мікроорганізми: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* «Тераков», *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404. На початку експерименту було виготовлено по три серії зразків фітоемulsії та крем-маски: у перші серії додавали 0,2 % калію сорбату, у другі — суміш калію сорбату і саліцилової кислоти (1 : 1) 0,2 %, треті — контрольні зразки без консерванта. Досліджувані серії розважували по 10 г у стерильні пеніцилінові флакони, контамінували монокультурами вищезазначених мікроорганізмів (10^6 КУО/г) та грибів (10^5 КУО/г). Герметично закриті флакони зберігали у темному місці 28 днів при температурі 20–25 °С.

Для визначення кількості життєздатних клітин у препаратах тест-культур мікроорганізмів готували емульсії з кожним досліджуваним зразком у стерильному розчині натрію хлориду з емульгатором твіном-80 (2,5 %) у співвідношенні 1 : 10. Отримані емульсії та їх десятикратні розведення (1 : 10 і 1 : 100) негайно засівали на щільні поживні середовища. Кількість мікроорганізмів визначали через 2, 7, 14 та 28 днів після контамінації. Посіви досліджуваних і контрольних зразків інкубували в термостаті при температурі 37 °С протягом 1 доби і ще 2 доби — при кімнатній температурі. Підраховували кількість колоній мікроорганізмів на кожній чашці Петрі і здійснювали перерахунок на одиницю маси препарату, враховуючи виконані розведення.

Результати дослідження та їх обговорення

Критерієм оцінки ефективності консерванта в лікарській

формі є зниження кількості життєздатних клітин тест-мікроорганізмів у препараті за певний період часу. Відповідно до вимог ДФУ, для препаратів місцевої дії існують два критерії оцінки ефективності антимікробних консервантів: критерій А і критерій В. Відповідно до критерію А, у препараті через 2 доби логарифм зниження кількості життєздатних клітин бактерій повинен становити не менше 2, через 7 днів — не менше 3; через 28 днів кількість мікроорганізмів не повинна збільшуватися. Для грибів логарифм зниження життєздатних клітин через 14 днів повинен становити не менше 2, а через 28 днів їх кількість не повинна збільшуватися. Критерій А відповідає рекомендованій ефективності [2].

Якщо обґрунтовано, що критерій А не можна отримати, наприклад, із причин підвищеного ризику несприятливих впливів на пацієнта або загрози хімічній стабільності препарату при підвищеній концентрації консерванта, то лікарський засіб задовольняє критерій В. Відповідно до критерію В, логарифм зниження кількості життєздатних клітин бактерій через 14 днів повинен становити не менше 3, у подальшому кількість мікроорганізмів не повинна збільшуватися; логарифм зниження кількості життєздатних клітин грибів через 14 днів повинен становити не менше 1, у подальшому їх кількість не повинна збільшуватися [2].

Результати вивчення ефективності консервантів у досліджуваних засобах представлені в табл. 1. У зразках без консерванта через 2 доби після інокуляції культур спостерігалось істотне зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів, порівняно з початковим мікробним навантажен-

ням. Проте надалі їх кількість зберігалася приблизно на однаковому рівні в усі терміни спостереження. Для *A. brasiliensis* нами зареєстровано тенденцію до збільшення мікробного числа (МЧ) протягом зберігання препаратів. Отримані результати свідчать, що діючі речовини фітозасобів не володіють протимікробною активністю і навіть на мінімальному рівні підтримують їх життєдіяльність.

У досліджуваних зразках препаратів з калію сорбатом кількість мікроорганізмів після 7 днів зберігання була значно меншою, порівняно з контролем і надалі продовжувала знижуватися протягом спостережуваного часового періоду. Через 2 доби логарифм зменшення МЧ для бактерій становив >2, через 7 днів — >4. Після 28 днів зберігання препарату логарифм зменшення МЧ для золотистого стафілокока та синьогнійної палички становив >4, а інокульованої кишкової палички не було виявлено взагалі. Для грибів логарифм зменшення МЧ після 14 та 28 днів зберігання становив >6, у ці терміни в препараті вони не виявлялися взагалі. Отримані результати свідчать про те, що дія калію сорбату як консерванта відповідає вимогам критерію А, зазначеного в ДФУ. Консервант володіє вираженими антифунгальними і в дещо меншій мірі — антибактеріальними властивостями щодо *S. aureus* і *P. aeruginosa*.

Застосування як консерванта комбінації калію сорбату та саліцилової кислоти дозволило досягнути більш вираженого антибактеріального й антифунгального ефекту (див. табл. 1). Через 2 доби після інокуляції культур логарифм зменшення МЧ для золотистого стафілокока становив 2,5, а для еше-



**Ефективність антимікробних консервантів у фітоемульсії
для лікування андрогенної алопеції**

Показник	Термін експозиції	Вимоги ДФУ (критерій А)		Кількість мікроорганізмів, lg КУО/г; * lg зменшення				
		Кількість бактерій, * lg зменшення	Кількість грибів, * lg зменшення	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i>
Початкове навантаження (0,9 % р-н NaCl)	Відразу після контамінації	6	5	6,72	7,72	7,50	6,34	7,00
Зразки без консерванта (контроль)	2 доби	$\frac{4}{*2}$	—	$\frac{3,17}{*3,55}$	$\frac{5,36}{*2,36}$	$\frac{4,50}{*3,00}$	2,30	5,41
	7 діб	$\frac{3}{*3}$	—	$\frac{3,44}{*3,28}$	$\frac{4,90}{*2,82}$	$\frac{3,94}{*3,56}$	5,00	5,80
	14 діб	—	$\frac{3}{*2}$	3,30	3,93	3,00	$\frac{4,31}{*2,03}$	$\frac{5,15}{*1,85}$
	28 діб	0	0	3,00	3,00	3,04	4,76	5,70
Зразки препаратів з калію сорбатом	2 доби	—	—	$\frac{4,31}{*2,41}$	$\frac{5,56}{*2,16}$	$\frac{3,63}{*3,87}$	3,00	3,10
	7 діб	—	—	$\frac{2,00}{*4,72}$	$\frac{2,00}{5,72}$	$\frac{2,00}{*5,50}$	2,00	0
	14 діб	—	—	3,00	0	2,00	$\frac{0}{*6,34}$	$\frac{0}{*7,00}$
	28 діб	—	—	2,00	0	2,00	0	0
Зразки препаратів з калію сорбатом і саліциловою кислотою	2 доби	—	—	$\frac{4,24}{*2,48}$	$\frac{4,39}{*3,33}$	$\frac{3,43}{*4,07}$	4,30	2,30
	7 діб	—	—	$\frac{0}{*6,72}$	$\frac{0}{*7,72}$	$\frac{0}{*7,50}$	0	0
	14 діб	—	—	0	0	0	$\frac{0}{*6,34}$	$\frac{0}{*7,00}$
	28 діб	—	—	0	0	0	0	0

рихій і псевдомонад — >3. Після 7 діб зберігання у жодному із досліджених зразків контамінованого препарату присутності бактерій та грибів не виявлено (логарифм зменшення МЧ >6). Таким чином, досліджена композиція також відповідає вимогам критерію А ДФУ і забезпечує високу мікробіологічну чистоту препаратів та їх стабільність.

Висновки

1. Проведені експериментальні дослідження показали, що для забезпечення мікробіо-

логічної стабільності емульсійних фітопрепаратів для лікування АА з екстрактом пальми сабаль та настоянкою софори японської необхідно введення консерванта.

2. Сорбат калію в концентрації 0,2 % у цілому забезпечує необхідну ефективність антимікробної консервуючої дії та запобігає розвитку мікроорганізмів у препаратах. Проте більш ефективною як з мікробіологічної точки зору, так і з огляду на додаткові фармакологічні властивості є стабілізація розроблених засобів комбінованим консервантом — це

сорбат калію та саліцилова кислота (1 : 1) — 0,2 %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гавкалюк М. И. Перспективы применения экстракта плодов пальмы сабаль для лечения андрогенной алопеции / М. И. Гавкалюк, И. О. Гулейчук // Молодые ученые и фармация XXI века : первая науч.-практ. конф. аспирантов и молодых ученых : сб. науч. трудов. — М., 2013. — С. 47–50.

2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доп. 4. — Х. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. — С. 169–173.



3. Жук О. В. Обґрунтування вибору консерванта у розробленому піно-мийному засобі для дітей / О. В. Жук, І. І. Баранова, О. П. Стрілець // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – № 1 (36). – С. 9–12.

4. Коваленко С. М. Обґрунтування вибору консерванта при розробці гелю для лікування діабетичних виразок / С. М. Коваленко, Т. П. Осолдченко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – № 2 (7). – С. 53–56.

5. Ярема І. О. Маркетингові дослідження ринку лікарських і косметичних засобів, що призначені для застосування при різних формах алопеції / І. О. Ярема, М. І. Федоровська, Л. В. Соколова // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014. – № 3 (16). – С. 106–110.

6. Patil K. T. Herbal medicines as an effective therapy in hair loss / K. T. Patil // Research Journal of Pharma-

ceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2010. – № 1 (2). – P. 773–780.

REFERENCES

1. Gavkalyuk M.I., Guleychuk I.O. Prospects of Saw palmetto extract application in androgenetic alopecia treatment *Molodye uchonye i farmazija XXI veka: sbornik nauchnykh trudov I nauchno-prakticheskoy konferentsii aspirantov i molodykh uchonykh* [Young scientists and pharmacy of the XXI Century: Materials of the first scientific conference of graduate students and young scientists], Moscow 2013: 47-50.

2. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*. [State Pharmacopoeia of Ukraine]. Kharkiv: Derzhavne pidpriemstvo "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv" 2011 [in Ukrainian].

3. Zhuk O.V., Baranova I.I., Strilets O.P. Substantiation of choice of preservatives in the developed foam de-

tergent for children *Ukrainskyi biopharmatsevtichnyi zhurnal* 2015; 1 (36): 9-12.

4. Kovalenko S.N., Osolodchenko T.P. Ground of choice preservative at development of gel for treatment of diabetic ulcers. *Ukrainskyi zhurnal klinichnoi ta laboratornoi medytsyny* 2012; 7 (2): 53-56.

5. Yarema I.O., Fedorovska M.I., Sokolova L.V. Marketing researches of medicinal and cosmetic remedies intended for applying in various forms of alopecia. *Aktualni pytannya farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky* 2014; 3 (16): 106-110.

6. Patil K.T. Herbal medicines as an effective therapy in hair loss. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2010; 1 (2): 773-780.

Надійшла 15.02.2016

Рецензент д-р мед. наук,
проф. М. М. Лебедюк

УДК 615.322:582.736.3]:581.1923

О. В. Гречана

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛЮЦЕРНИ ЖОВТОЇ (СЕРПОПОДІБНОЇ АБО РУМУНСЬКОЇ) — *MEDICAGO FALCATA L. SUBSP. ROMANICA* (PRODAN) O. SCHWARZ & KLINK

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна

УДК 615.322:582.736.3]:581.1923

Е. В. Гречаная

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЮЦЕРНЫ ЖЕЛТОЙ (СЕРПОВИДНОЙ ИЛИ РУМУНСКОЙ) — *MEDICAGO FALCATA L. SUBSP. ROMANICA* (PRODAN) O. SCHWARZ & KLINK

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина

Определяли диагностические признаки сырья *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink: черешок листка опушен трихомами в виде простых одноклеточных волосков с бородавчатой кутикулой; в основании волосков клетки расположены в виде розетки; со стороны флоэмы хорошо выражена склеренхимная обкладка, которая выражена меньше со стороны ксилемы.

Впервые проводили хроматографирование с масс-спектрометрическим детектированием сырья после проведения кислотного гидролиза. По данным газожидкостной хроматографии найдены 52 соединения, из которых идентифицирован 41 компонент. Сырье *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink содержало ряд биологически активных веществ первичного синтеза — спирты, альдегиды, кетоны и пр. Из класса истинных кумаринов в траве люцерны румынской после проведения гидролиза идентифицировались: дигидрокумарин, кумарин и 6 метилкумарин.

Ключевые слова: истинные кумарины, люцерна, фармакогностическое исследование.

