

Izazovi primjene parabena kao konzervansa u farmaceutskim oblicima lijekova i kozmetici

Ukić, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:539757>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Petra Ukić

**Izazovi primjene parabena kao konzervansa u
farmaceutskim oblicima lijekova i kozmetici**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Marija Juga.

Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr. sc. Mariu Jugu na pomoći i uloženom vremenu za izradu ovog diplomskog rada. Posebno hvala i kolegama i obitelji na podršci.

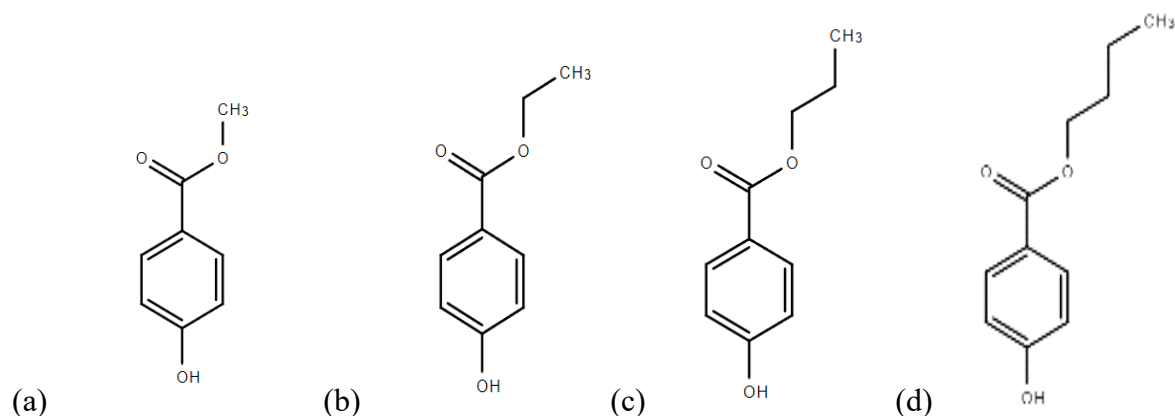
Sadržaj

1

1. Uvod.....	1
2. Obrazloženje teme	4
3. Materijali i metode.....	6
4. Rezultati i rasprava	7
4.1 Fizikalno-kemijska svojstva parabena	7
4.2. Farmakokinetika i farmakodinamika parabena	8
4.3. Antimikrobni učinak parabena	11
4.4. Interakcija parabena s nanočesticama	13
4.5. Zdravstveni rizici primjene parabena.....	13
5. Zaključci	19
6. Popis kratica, oznaka i simbola.....	20
7. Literatura.....	21
8. Sažetak/Summary	30
Temeljna dokumentacijska kartica	

1. Uvod

Porast imunokompromitiranosti u populaciji potaknuo je javnozdravstveni interes za onečišćenja u okolišu te se danas intenzivno prati izloženost istima kako kod ljudi tako i kod manje složenih organizama. Među proučavanim onečišćenjima, istaknuto mjesto imaju konzervansi. Studije narušene reprodukcije u životinja i pojavnost tumora dojke, koji je prema meta analizi vodeći tumor u Europi, govore o mogućim neželjenim zdravstvenim učincima konzervansa u proizvodima za svakodnevnu upotrebu (Lundqvist i sur., 2016). Izražena antimikrobna svojstva i manja cijena koštanja estera p-hidroksibenzojeve kiseline u odnosu na ostale konzervanse doprinijela su širokoj primjeni ovih konzervansa ponajprije u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji, a djelomično i u industriji hrane i pića (Al-Halaseh i sur., 2022). Strukturne formule metilnog, etilnog, propilnog i butilnog estera parahidroksibenzojeve kiseline prikazane su na Slici 1. Kao pomoćne tvari dodaju se u širok spektar farmaceutskih oblika lijekova, a male količine parabena mogu se pronaći i u pitkoj vodi i kućanskoj prašini (Błędzka, Gromadzinska i Wasowicz, 2014). Znanstveno vijeće za sigurnost potrošača tvrdi kako je pri propisanoj koncentraciji upotreba konzervansa neškodljiva za zdravlje ljudi, dok su prema farmakodinamskim obilježjima svrstani u skupini tvari koje narušavaju ravnotežu hormona (Petrić, Ružić i Žuntar, 2021; Guarnotta i sur., 2022). Potencijalno štetni učinci ovih spojeva kroničnom primjenom se intenzivno proučavaju, a u posebnom je fokusu njihovo međudjelovanje s ostalim onečišćenjima, kao što su pesticidi te bisfenoli i polihalogenirani organski spojevi (Diamanti-Kandarakis i sur., 2009).



Slika 1. Kemijske strukture metilparahidroksibenzoata (a), etilparahidroksibenzoata (b), propilparahidroksibenzoat (c), butilparahidroksibenzoat (d)

Sinteza parabena je jednostavna, a razvijene su i takozvane zelene metode sinteze kojima se minimaliziraju otpadni produkti i skraćuje vrijeme trajanja te utrošak energije pri sintezi (Hazarika, Parajuli i Phukan, 2007).

Upotreba parabena seže od 30-ih godina prošlog stoljeća, a dominantno se koriste u farmaceutskim oblicima lijekova te proizvodima za njegu i održavanje zdravlja kože. U kozmetičkim proizvodima zastupljeni su u oblicima koji imaju dulji kontakt s kožom i onima koji se ispiru. (Błędzka, Gromadzinska i Wasowicz, 2014).

Često se koriste u kombinaciji, a propisi Europske unije nalažu da se smjese parabena u kozmetičkim proizvodima smiju koristiti u koncentracijama do 0,8%, dok količine pojedinačnih parabena ne smiju prelaziti 0,4%. Regulativa u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) je nešto blaža, te Američka agencija za hranu i lijekove (FDA), preporučuje da se proizvođači pridržavaju ovih razina, iako one nisu obavezne (Dodge i sur., 2015).

U farmaceutskim oblicima lijekova, paraben se smatraju sigurnim za primjenu te nisu obuhvaćeni zahtjevom za ispitivanje neškodljivosti. Butilparaben odobren je za upotrebu u maksimalnoj količini od 0,04 mg u formulaciji tableta s produženim djelovanjem i 0,016% u oralnoj otopini. Metil paraben je odobren u maksimalnoj količini od 1,8 mg u formulaciji tableta i 0,15% u oralnoj otopini, dok je propilparaben odobren za upotrebu u maksimalnoj količini od 0,22 mg u formulaciji tableta s produljenim djelovanjem i 10% u oralnoj otopini. (<https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/inactive-ingredients-approved-drug-products-search-frequently-asked-questions>, 01.07.2023.). Metil i butilparaben su odobreni u različitim polučvrstim pripravcima u količinama koje variraju od 0,01 do 0,4%, a u istima je propilparaben zastupljen u koncentracijama od 0,02 do 0,8%.

Ranija istraživanja ukazuju na široku izloženost populacije parabenima. Podaci iz SAD o izloženosti ljudi kemikalijama iz okoliša pokazuju da su metil i propilparaben u uzorcima urina otkriveni su u 99,1% odnosno 92,7% ispitanika, dok je butilparaben otkriven u 40% ispitanika. Pri tome, u ženskoj populaciji se određene nekoliko puta veće koncentracije metilparabena i propilparabena od muškaraca, što vjerojatno odražava veću upotrebu kozmetičkih proizvoda koji sadrže parabene. Dermalna apsorpcija je najvažniji način izlaganja parabenima zbog njihove raširene upotrebe u proizvodima za osobnu njegu, a ne treba zanemariti niti oralnu apsorpciju, s obzirom da se parabeni koriste kao konzervansi u oralnim farmaceutskim oblicima lijekova. Nakon oralne primjene, parabeni podliježu brzom metaboličkoj razgradnji u jetri u netoksičnu p-hidroksibenzojevu kiselinu. Eksperimenti na

mikrosomima pokazuju kako je poluvrijeme razgradnje za metilni ester svega 22 minute, dok za butilparaben ono iznosi 87 minuta. Pri tome, lipofilniji derivati se mogu nakupljati u masnom tkivu (Abbas i sur., 2010).

Najveća pozornost usmjerena je na parabene sadržane u antiperspiransima što je bitno kako za ženski tako i za muški spol zbog anatomskih obilježja mjesta primjene (McGrath, 2003). Mogu dovesti do promjena u sintezi aktivnog ženskog spolnog hormona i formirati oksidirane metabolite, no stvarni potencijal za narušavanje balansa spolnih hormona u NOAEL dozi nije značajan, s obzirom da je njihov afinitet vezanja za estrogenske receptore za nekoliko redova veličine slabiji od prirodnog estradiola. Potrebno je uključiti više parametara kao što je učestalost primjene, količina i prisutnost ostalih tvari kako bi se definiralo štetno djelovanje (Petrić, Ružić i Žuntar, 2021). Sporadični slučajevi kontaktnog dermatitisa ukazuju na odgođeni alergijski potencijal. Kao jedan od razloga i za i protiv izazivanja reakcija preosjetljivosti može se navesti čest doticaj s kožom. Sheskey, Cook i Cable (2016) tvrde da u usporedbi s drugim konzervansima imaju najmanji potencijal za izazivanje preosjetljivosti. Promjena farmakodinamike moguća je oblikovanjem parabena u nanočestice čime se povećava i mogućnost nuzdjelovanja (Cerreto i sur., 2013). Neka istraživanja ukazuju na istovremenu prisutnost parabena u organizmu i smanjene parametre plodnosti na ispitanicima koji su u postupku umjetne oplodnje, dok brojna druga istraživanja negiraju bilo kakav značajan utjecaj na reprodukciju (Oishi, 2004).

Zbog izražene zabrinutosti javnosti vezano uz parabene u kozmetičkim pripravcima, potrebno je istaknuti da iste dodatke koristi i prehrambena industrija, iako u manjoj mjeri (Tade i sur., 2018). Sve to rezultira rastućom pojavnosti parabena u vodenim ekosustavima putem otpadnih voda, gdje se smatra da uzrokuju promjene androgeneze riba (Hatekeyama i sur., 2003). Najčešće korišteni metilni i propilni derivat nakupljaju se u vodenim organizmima, a količina određenih parabena proporcionalna sa duljinom i težinom životinje (Ramaswamy i sur., 2011).

Raste zabrinutost vezano uz nakupljanje parabena u okolišu, te se intenzivno razvijaju nove tehnologije za njihovo uklanjanje. Pročišćavanje otpadnih voda moguće je uz pomoć polipropilenskih vlakana sa amfifilnim osobinama a istjecanje u okoliš smanjuje se ekološki prihvatljivim metodama pročišćavanja. Poluživot parabena u okolišu iznosi oko tri dana za metil ester i povećava se povećanjem duljine alkilnog lanca i dodavanjem atoma halogena (Mariño-González i sur., 2011; Ran i sur., 2020).

2. Obrazloženje teme

Konzervansi su tvari koje jamče mikrobiološku stabilnost koja je ključna za zdravstvenu ispravnost različitih farmaceutskih oblika lijekova, naročito kod tekućih i polukrutih oblika za primjenu na koži i *per os*. Svrstani su u različite klase ovisno o kemijskoj strukturi te mehanizmu djelovanja. Kemijski heterogenu skupinu sačinjavaju tradicionalni agensi poput šećera, alkohola, soli, ulja te sintetski agensi kao što su acetati, propionati, nitriti, parabeni te mnogi drugi spojevi s antimikrobnim djelovanjem (Lee i Paik, 2016). Nadalje, konzervansi mogu biti i mikrobnog porijekla primjerice bakterijski soj *Lactococcus lactis* producira nisin koji zbog baktericidnog djelovanja prema *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium botulinum* i *Listeria monocytogenes* smanjuje potrebu za dodavanjem kemijskih konzervansa (Maurício i sur., 2017). Idealna svojstva su širok antimikrobni potencijal, netoksičnost, visoka topljivost, temperaturna otpornost i djelovanje u širokom pH. Parabeni su uglavnom netoksični a po kemijskim i antimikrobnim svojstvima najprikladniji su za pripravke namijenjene vanjskoj primjeni. Posjeduju baktericidno, antivirusno i antifungalno djelovanje prema velikom broju oportunističkih mikroorganizama (Błędzka, Gromadzinska i Wasowicz, 2014).

Cilj ovog istraživanja je razlučiti pozitivne i potencijalno negativne karakteristike estera p-hidroksi benzojeve kiseline (p-HBK). Unatoč tome što se tijekom dugog niza godina primjenjuju u različitim formulacijama kao sigurni konzervansi, neka istraživanja ukazuju na nepovoljne karakteristike parabena. Učinak parabena na razini tkiva i organa nije u potpunosti jasan, a neka istraživanja ukazuju da dugotrajna primjena može potaknuti rast tumora (Hager, Chen i Zhao, 2022). Nakon primjene biorasploživost parabena je ograničena, a poluvrijeme eliminacije je kratko. No zbog strukturnih obilježja dugotrajna primjena može dovesti do promjena u razini estrogena, testosterona, tiroidnog stimulirajućeg hormona kao i hormona gušterače. Afinitet prema staničnoj membrani povećava se razgranatošću postraničnog lanca i dodatkom halogena. Supstitucija estera atomom klora rezultira spojevima koji mogu biti problem za okoliš zbog povećane stabilnosti i toksičnosti (Li i sur., 2015). Neka istraživanja navode da dovode do promjena u spolnom sazrijevanju životinja, a tragovi parabena u urinu povezuju se sa smanjenim parametrima plodnosti u ljudi (Smith i sur., 2013). Osim topikalno nerijetko se unose oralnim putem, što rezultira većom sistemskom izloženošću parabenima koja se povezuje s većim rizikom za zdravlje. Istodobna upotreba parabena i nekih drugih pomoćnih tvari kao što su bisfenoli može povećati negativna djelovanja ovih konzervansa. Stoga je u većini europskih zemalja donesena regulativa kojom se određuje njihova količina

dok Danska ima dodatno pravilo za dobne skupine te je primjena zabranjena na djeci mlađoj od tri godine (Petrić, Ružić i Žuntar, 2021). Najveća pozornost usmjerena je na deodoranse s obzirom da se primjenjuju na području bogatom limfnim čvorovima, pa se postavlja pitanje njihovog nakupljanja u limfnom tkivu tijekom dugotrajne primjene (Tong i sur., 2023). Sve navedeno potiče rast zabrinutosti vezano uz sigurnost primjene parabena i negativnu sliku vezano uz njihovu primjenu. Danas neke kozmetičke kompanije izbjegavanju parabene kao konzervanse te se promovira primjena kozmeceutika sa konzervansima prirodnog podrijetla, koji su u nekim aspektima zdravstvene ispravnosti čak i nepovoljnijih karakteristika (Nowak, Jabłońska i Ratajczak-Wrona, 2021).

Među pozitivnim svojstvima parabena treba izdvojiti da uz brz metabolizam primjenom u dozi bez štetnog učinka (eng. *Not Observed Adversed Effect, NOAEL*) nema rizika od primjene (Andersen, 2008). Zahvaljujući povoljnim fizikalno-kemijskim karakteristikama mogu se uklapati u različite oblike te međusobno kombinirati s ciljem povećanja antimikrobne učinkovitosti. Metil i propilparaben su među najčešće korištenim derivatima, a zabrinjava njihova prisutnost u rijekama Kine i Europe kao i u vodenim organizmima tog područja, dok pojedine analize potvrđuju prisutnost nepromijenjenih estere p-HBK i u tkivu dojke (Lincho, Martins i Gomes, 2021; Downs i sur., 2023). Neka istraživanja ukazuju da parabeni ne uzrokuju rak no mogu potaknuti rast već postojećeg tumora zbog utjecaja na balans hormona (Darbre i Harvey, 2014). Obzirom na sve navedeno, cilj ovog rada je napraviti opsežan pregled dostupnih literaturnih podataka o sigurnosti i rizicima primjene parabena kao konzervansa u farmaceutskim oblicima lijekova.

Hipoteza ovog rada je da su parabeni sigurni za primjenu, no možda je neophodno revidirati njihov način primjene u proizvodima koji se primjenjuju kronično, a tu su najzastupljeniji kozmetički pripravci za osobnu higijenu. Krajnji cilj je doprinijeti razvoju kritičke evaluacije dostupnih literaturnih podataka s ciljem racionalnog prosuđivanja potencijala primjene parabena kao konzervansa u farmaceutskim oblicima lijekova i kozmetici i s time vezanih rizika kako za zdravlje ljudi, tako i za okoliš.

3. Materijali i metode

U izradi ovog preglednog diplomskog rada korišteni su različiti preglednici znanstvene literature kao što su baze podataka biomedicinskog područja PubMed, Hrčak portal, Google Scholar. Pretraživanje je provedeno pomoću ključnih riječi vezanih uz određeno potpoglavlje ovog diplomskog rada *paraben and tumor; paraben and endocrine tumor; paraben and physicochemical properties, paraben and oxidative stress, paraben and reproduction, paraben and syntesis, paraben and chloride, paraben and green degradation, paraben and pharmacokinetic, paraben and pharmacodynamic, paraben and nanoparticle, paraben and antibacterial activity, paraben and antiviral activity, paraben and antifungal activity, paraben and food, paraben and toxicology, paraben and human exposure*. Pregledni rad sačinjen je od različitih vrsta članaka kao što je izvorni znanstveni članak, sustavni pregledni članak, meta analiza, randomizirani kontrolirani pokus. Iz relevantnih članaka izdvojeni su najvažniji podaci o pojedinim sustavima za isporuku lijekova te su pregledno opisani u ovom diplomskom radu. Zakonodavne smjernice imaju porijeklo u uredbi REACH kojom je uređena primjena derivata parabena u različitim djelatnostima, Uredbi (EZ) br. 1223/2009 Europskog parlamenta i Vijeća o kozmetičkim proizvodima gdje su razvrstani u kategorije po štetnosti, Uredbi o prehrambenim aditivima (1333/2008) i Uredbi o deterdžentima (648/2004). Alergogeno djelovanje pretraženo je na web-stranici Europske Medicinske Agencije. Pojedinačni esteri opisani su pomoću Vodiča o farmaceutskim ekscipijensima (eng. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*).

4. Rezultati i rasprava

4.1 Fizikalno-kemijska svojstva parabena

Derivati 4-hidroksibenzoatne kiseline koriste se dugi niz godina zbog velikog potencijala u očuvanju antimikrobne ispravnosti farmaceutskih i kozmetičkih pripravaka, prihvatljivih karakteristika i različitih mogućnosti dobivanja. U kemijskom pogledu to su esteri p-hidroksibenzojeve kiseline i odgovarajućeg alkohola. Zbog hidrofobnih interakcija imaju izraženo djelovanje na membranu gljivica i bakterija, a dobra fizikalno kemijska svojstva omogućuju uklapanje u različite oblike lijekova. Stabilni su u širokom rasponu pH- vrijednosti od 4 do 8, a porastom pH iznad 8 smanjuje se njihov antimikrobni učinak što zbog ionizacije, a što zbog hidrolitičke razgradnje estera (Błędzka, Gromadzińska i Wąsowicz, 2014). Antimikrobni učinak zavisi o duljini i razgranatosti bočnog ogranka dok se istodobno s produljenjem lanca smanjuje topljivost u vodi. Kao pretežito lipofilne molekule u emulzijama se razdjeljuju u uljnu fazu, izuzev metilparabena koji je ima manje hidrofobnih interakcija. Za razliku od lipidne, vodena faza ima veću mogućnost akumulacije mikroorganizama. Stoga je potrebno postići odgovarajuću orijentaciju konzervansa prema frakciji s većom gustoćom bakterija. Kako bi se postigla optimalna raspodjela i antibakterijski učinak najčešće se kombiniraju propil i metilhidroksibenzoat. Ne utječu na miris i okus te su kompatibilni s ostalim sastavnicama pripravka (Barabasz i sur., 2019). S nekima od njih djeluju sinergistički. Primjer aditivnog učinka uočen je u kombinaciji s propilen glikolom koji služi kao humektans, otapalo i u njezi kože. Odlikuje ih mala cijena sinteze i mogućnost razvitka zelenijih varijanti. Proizvode se esterifikacijom p-hidroksibenzojeve kiseline i alkohola, a kao katalizator se može koristiti ponovno upotrebljiva glina (Hararika, Parajuli i Phukan, 2007). Produciraju ih i neke biljne vrste koje ih koriste u obrani od nametnika. U morskoj spužvi *Leuconia nivea* pronađeni su etil i butil paraben koji pokazuju jače antibakterijsko djelovanje prema *Staphylococcus* vrstama od umjetno sintetiziranih derivata (Quevrain i sur., 2009). Loše strane su nastanak toksičnih otpadnih produkata, niska topljivost u vodi lipofilnijih derivata koji su učinkovitiji antimikrobni agensi kao i povećana nusdjelovanja zbog izražene lipofilnosti (Bolujoko i sur., 2021). Kontaktom s vodovodnom vodom može doći do supstitucije atoma vodika pri čemu nastaju di-klorirani oblici koji su značajno stabilniji te je neophodno detaljno ispitati njihov utjecaj na okoliš (Canosa i sur., 2006).

4.2. Farmakokinetika i farmakodinamika parabena

Unos parabena u organizam moguć je svim putevima, od peroralnog, parenteralnog, inhalacijskog te najvećim se dijelom odvija dermalnim odnosno topikalnim putem. Parabeni ptječu iz raznih izvora od prehrambenih proizvoda, lijekova, proizvoda za njegu i zaštitu kože do zraka u kućanstvu i vode za piće (Tade i sur., 2018). Proizvodi osobne njege najviše doprinose izloženosti u ljudi, nakon čega slijede parahidroksibenzoatni esteri dodani prehrambenim proizvodima te farmaceutski oblici za vanjsku primjenu (Petrić, Ružić i Žuntar, 2021).

Količina parabena u tijelu varira ovisno o količini i učestalosti unošenja kao i detoksifikacijskoj sposobnosti organizma. Neki navode kako se u čimbenike s utjecajem na količinu parabena treba ubrojiti i masa tijela. Stoga između odraslih žena i muškaraca, kod žena su zabilježene veće koncentracije, a obzirom na odnos površine i mase djeca su najizloženija (Zhou, Chen i Ding, 2018). Metabolički se razgrađuju esterazama probavnog sustava i kože te se relativno kratko zadržavaju u tijelu. U usporedbi s originalnim spojem, većina istraživanja tvrdi da produkti metabolički produkti nemaju biološku aktivnost (Abbas i sur., 2010). Kao biomarker oralne primjene parabena koristi se p-hidroksibenzojeva kiselina koja je glavni metabolit, ali i p-hidroksihipurna kiselina iako manje količine iste nastaju u organizmu metabolizmom tirozina (Shin i sur., 2019). Unatoč tome što su produkti razgradnje većinom inaktivni, neki rezultati ukazuju da mogu nastati i oksidirani butil i izobutil fragmenti. U *in vitro* mikrookolišu ovi oblici mogu pojačati oksidacijski stres no pitanje je da li se isti učinak može preslikati u *in vivo* uvjete (Moos i sur., 2015). Hidrolitičko cijepanje proporcionalno je duljini lanca, pri čemu se metilparaben metabolizira u najmanjoj mjeri zbog niskog afiniteta prema interakciji sa staničnim enzimima, što pridonosi njegovom nakupljanju. Također, vezivanjem za humani serumski albumin zaštićuju se od daljnje hidrolize, što pridonose akumulaciji (Hager, Chen i Zhao, 2022).

Nakupljanje u organizmu veće je kada se nanose topikalno na vanjske dijelove tijela. Osim međudjelovanja aktivne tvari i podloge u kozmetičkom obliku, za to su dijelom odgovorni enzimi kojih je u koži manje aktivni te fizikalno-kemijske interakcije sa slojevima kože. Veću penetrabilnost kroz slojeve kože imaju lipofilnije supstance, a oblici koji zaostaju u koži mogu narušiti sposobnost samoobnove kože (Hussein i sur., 2007). U *in vitro* studiji pokazano je zadržavanje metilparabena u površinskom sloju kože koje dovodi do morfoloških promjena koje su izražene smanjenjem kolagena, hijaluron sintaze ali i manjim kapacitetom

dijeljenja (Ishiwatari i sur., 2007). Autori smatraju da bi primjena metilnog estera parahidroksibenzoatne kiseline bila pogodnija u pripravcima za njegu koji se ispiru s kože. Zadržavanje u rožnatom sloju doduše smanjuje sistemsku izloženost parabenima, obzirom da se koža brzo obnavlja i mrtvi keratinociti s benzoatnim derivatima se kontinuirano ljušte. Drugo *in vitro* istraživanje pokazuje kako metil i propilparaben (u koncentraciji od 10 mg/ml) imaju sličan učinak na preživljenje staničnih kultura fibroblasta i keratinocita kao 2-fenoskietanol, glukonolakton i natrij benzoat, dok primjena eteričnog ulja grejpa, pri istoj koncentraciji rezultira značajnim padom u sintezi vezivnog kolagena i konačnog broja fibroblasta i keratinocita (Głaz i sur., 2023).

Rezultati studije koja je ispitivala učinke sedam uobičajenih konzervansa na mikrofloru kože lica, uključujući metil, propil i butilparaben te fenoksietanol, benzilni alkohol, izopropil alkohol i benzalkonijev klorid pokazuju da korišteni konzervansi inhibiraju rast patogenih gljivica kao što su *Candida* spp. i *Malassezia* spp, ali ne djeluju negativno na rast bakterijske mikroflore kože. Parabeni su učinkovitiji protiv filamentoznih gljivica i kvasaca. U studiji je pokazano da fenoksietanol, metil i propilparaben pokazuju antimikrobno djelovanje protiv *Staphylococcus epidermis* i *S. aureus*, čak i pri koncentracijama nižim od 0,3%. Parabeni, posebno propilparaben, pokazali su najsnažnije antimikrobne učinke protiv *S. epidermis* i *S. aureus* koji su izolirani iz uzoraka kože, a zatim po učinkovitosti slijedi fenoksietanol. Ovi rezultati pokazuju da parabeni inhibiraju rast komenzalnih kvasaca te na taj način mijenjaju mikrobiom kože, što može djelovati nepovoljno na barijernu funkciju kože (Jin-Ju i Dong-Hyun, 2015). U idealnom slučaju, konzervansi trebali bi inhibirati rast mikroba u proizvodima za osobnu njegu, bez utjecaja na mikrofloru kože. No, potrebna su dodatna istraživanja da se preciznije procijene eventualno štetni učinci koji proizlaze iz utjecaja parabena na mikrobiom kože. Naime, dostupna su i istraživanja koja pokazuju neznatni učinak konzervansa sa sastav mikrobioma kože. Murphy i sur. (2021) ispitivali su utjecaj kozmetičkih pripravaka na mikrobiom kože *in vivo*. Ispitivanje je uključivalo 2 vrste kozmetičkih pripravaka (pripravke koji se ispiru s kože nakon nanošenja i pripravke koji se ne ispiru s kože nakon nanošenja) koji su nanošeni tijekom 3 različita vremenska perioda (1 dan, 2 tjedna i 5 tjedana). Rezultati ispitivanja su pokazali da potpuno formulirani kozmetički proizvodi koji sadrže različite kombinacije konzervansa nemaju nikakav štetan utjecaj na strukturu ili raznolikost mikrobioma kože, neovisno je li riječ o tipu proizvoda koji se ispiru ili ostaju na koži nakon primjene. Vrlo vjerojatno, primjenom kozmetičkog proizvoda dolazi samo do kratkotrajne promjene mikrobioma kože, kao što je to pokazano za sapune i antiseptike koji se primjenjuju

za čišćenje kože. U tom smislu, čini se da mogućnost da parabeni sadržani u farmaceutskom obliku lijeka i/ili kozmetičkom proizvodu dovode do porasta prevalencije kožnih bolesti relativno mala (Murphy i sur., 2021).

Po nekim autorima zabrinjava podatak o akumulaciji parabena u masnom tkivu i njihov potencijalni učinak na metabolizam. Naime, metilparaben u interakciji s masnim stanicama može utjecati na homeostazu glukoze na način da povećava njen unos u stanice te reducirati bazalnu lipolizu u bijelom masnom tkivu, tipično zastupljenom u pretilih osoba, dok u adipocitima smeđeg masnog tkiva ne pokazuju taj učinak (Elmore i sur., 2020).

Kao glavno farmakodinamsko djelovanje parabena *in vivo* akcentira se narušavanje endokrinološkog sustava, ne isključujući njihova međudjelovanja sa reproduktivnim, živčanim, limfnim te gastrointestinalnim sustavom. Parabeni pripadaju skupini takozvanih endokrinih disruptora koji parakrinim te intakrinim putem narušavaju endokrinu funkciju (Golden, Gandy i Vollmer, 2005). Posjeduju aktivnost prema više proteina i enzima uključenih u sazrijevanje hormona a moguća je i modulacija ekspresije gena (Tade i sur., 2018). Utjecajem na proces sinteze proteina mogu nanositi promjene i budućim naraštajima. Za sada takvi učinci nisu dokazani za parabene, ali jesu za neke druge tvari. Primjerice, antimikrobni agent triklozan koji se dodaje zubnim pastama, vodicama za ispiranje usta, sapunima te dezinficijensima u istraživanjima na animalnim modelima pokazuje nepovoljan učinak na sazrijevanje ribe *Cyprinodon variegatus* djelovanjem na štitnjaču (Weatherly i Gosse, 2017). Agonističkim učinkom benzoatnih estera prema α , β , γ estrogen receptoru može se narušiti ravnoteža ženskih spolnih hormona. Pritom je važno da i prirodni estradiol u endogenim koncentracijama može imati štetne posljedice (Okubo i sur., 2001). Parabeni nisu jedini dodaci koji mogu prekomjerno aktivirati estrogenske receptore, a po nekima poticati i hormon ovisne tumore. Osim parabena, u tu se skupinu ubrajaju tvari koje štite od UV zračenja, a ujedno služe i u očuvanju mikrobiološke ispravnosti, uključujući 3-benzofenon, 4-metilbenzillidenkamfor i etilheksildimetil p-aminobenzojevu kiselina (Schlumpf i sur., 2001).

In vitro rezultati pokazuju kako je povećanje u produkciji slobodnih radikala jedan od mehanizama citotoksičnog djelovanja parabena. U kombinaciji s reaktivnim oblicima kisika potiču stvaranje višesupstituiranog glutation hidrokinona (Nishizawa i sur., 2006). Metilparaben u uobičajenim koncentracijama (0,003%) ne utječe značajno na vijabilnost keratinocita te parametre oksidacijskog stresa u keratinocitima. No, kada su stanice istovremeno izložene UV zračenju, dolazi do smanjenja vijabilnosti stanica, porasta razine oksidativnog stresa, proizvodnje NO, peroksidacije lipida i aktivacije transkripcijskih faktora

u keratinocitima tretiranim MP-om. Ovdje valja naglasiti da primijenjene doze UVB zračenja ne mijenjaju parametre oksidativnog stresa. Ovi rezultati pokazuju da metilparaben, koji se smatra sigurnim konzervansom u kozmetici, može imati štetne učinke na ljudsku kožu kada je izložena sunčevoj svjetlosti (Handa i sur., 2006).

Prema mišljenju Znanstvenog vijeća za sigurnost potrošača od dostupnih konzervansa, kao što su metilizotiozolinon, benzojeva kiselina, formaldehid i spojevi koji oslobađaju formaldehid te metildibromoglutaronitril, p-hidroksibenzoatni esteri su najsigurniji u kontekstu alergogenosti. Ne izazivaju nuspojave niti kod pacijenata sa kroničnim dermatitisom, a tek rijetke reakcije preosjetljivosti utvrđene su u slučajevima primjene estera parabena na oštećenu kožu (Petrić, Ružić i Žuntar, 2021). Oralnim unosom jako rijetko uzrokuju sistemske reakcije preosjetljivosti te se pogotovo u hrani i lijekovima smatraju neškodljivima (Reeder i Atwater, 2019).

4.3. Antimikrobni učinak parabena

Esteri p-hidroksibenzoata pokazuju širok spektar antimikrobnog učinaka te su djelotvorni protiv velikog broja bakterija i gljiva, a posebno izraženo djelovanje iskazuju prema kvascima i plijesnima. Niske koncentracije, manje od 1% metil i propilbenzoata u kombinaciji potrebne su za djelotvorno uništavanje gljivica vrsti *Cladosporidium* i *Penicillium* (Neves i sur., 2009). Mogu se koristiti samostalno ili u kombinaciji kada iskazuju sinergistički učinak (Sheskey, Cook i Cable, 2017).

Imidourea također pokazuje sinergistički učinak s parabenima (Sheskey, Cook i Cable, 2017), ali se ta kombinacija u praksi manje koristi jer derivati imidazolidina povećavaju incidenciju alergijskog kontaktnog dermatitisa (Gao i sur., 2021). Dodavanjem izotiocianata sulforafana, spoja izoliranog iz različitih kupusnjača, smanjuje se minimalna inhibitorna koncentracija metil i etilbenzoata protiv raznih mikroorganizama, kao što je *Candida albicans*, patogena gljivica koja uzrokuje teške mikoze te Gram-negativne bakterije *Aspergillus niger* i *Escherichia coli*. Poboljšana antimikrobna aktivnost korisnih komponenti jestivih biljaka može povećati učinkovitost parabena pri niskim koncentracijama i smanjiti nuspojave izazvane konzervansima (Murata i sur., 2019).

Baktericidno djelovanje parabena raste s povećanjem duljine bočnog lanca te se metil parabenu najčešće dodaje propilni ester. Neionski surfaktanti kao što je Polisorbat 80 mogu smanjiti aktivitet p-hidroksibenzoatnih estera zbog uklapanja u micelle (Sheskey, Cook i Cable, 2017).

Mehanizam djelovanja parabena uključuje djelomičan poremećaj membranskog transporta i mitohondrijske funkcije u mikroorganizmima. U kontekstu djelovanja na membrane jači učinak iskazuju prema *Staphylococcus aureus* u odnosu na *Candida albicans* (Flasínski i sur., 2018).

Propil i etilparaben spontano aktiviraju ionske kanale osjetljive na mehanički podražaj te tako smanjuju vijabilnost *Escherichie coli* (Nguyen i sur., 2005). Čišćenje katetera propilparabenom rezultira manjom incidencijom infekcija kod bolesnika na hemodijalizi, a pri tome nisu uočene nove nuspojave (Maki i sur., 2011).

Mikroorganizmi zastupljeni u otpadnim vodama mogu razviti otpornost na estere p-hidroksibenzatne kiseline. Pritom *Pseudomonas* vrste brže razvijaju rezistenciju od Gram-pozitivnih *Staphylococcus* vrsti (Selvaraj i sur., 2013). Istraživanjem efluentnih voda koje su bile u doticaju s parabenima pronalazi se veći broj bakterija otpornih na parabene te tetracikline i sulfametoksazol. Također, pokazalo se da prisutnost parabena u otpadnim vodama pridonosi smanju broja mikrobnih zajednica u slatkovodnim riječnim sedimentima koje su ključne za vezanje dušika i sumpora. Pri tome, metilparaben ima najveći potencijal stvaranja otpornih sojeva, dok se kod drugih derivata taj učinak smanjuje povećanjem duljine bočnog lanca (Yang, 2023).

Veliki broj istraživača razmatra prirodne alternative parabenima. Usporedbom antimikrobnog učinka eteričnog ulja cimeta (*Cinnamomum zeylancium*, L.) uočena je njegova superiorna učinkovitost protiv velikog broja bakterija i gljivica u odnosu na ono koje je pokazao metilparaben. U tom smislu, postoji mogućnost zamjene p-hidroksibenzoata uljem cimeta u emulzijama za topikalnu primjenu, ali svakako je potrebno vrednovati podnošljivost takvih formulacija (Herman, 2014).

Razvitak novih konzervansa podrazumijeva kombinacije tvari povećane amfifilnosti i posljedično većeg baktericidnog učinka. Komponenta s površinskom aktivnosti doprinosi nastanku pora membrane, a kisela komponenta snižava unutarstanični pH i remeti metaboličke procese u mikroorganizmu što rezultira staničnom smrću. Pa se tako danas u mnogim proizvodima koji nose oznaku formaldehid, paraben i izotiazolinon free često koriste gliceril kaprilat, prirodni ovlaživač s mikrobiocidnim učinkom, koji se kombinira s p-anizičnom (4-metoksibenzojeva kiselina) ili levulinskom (4-oksopentanoinska kiselina) kiselinom (Thiemann, 2014).

4.4. Interakcija parabena s nanočesticama

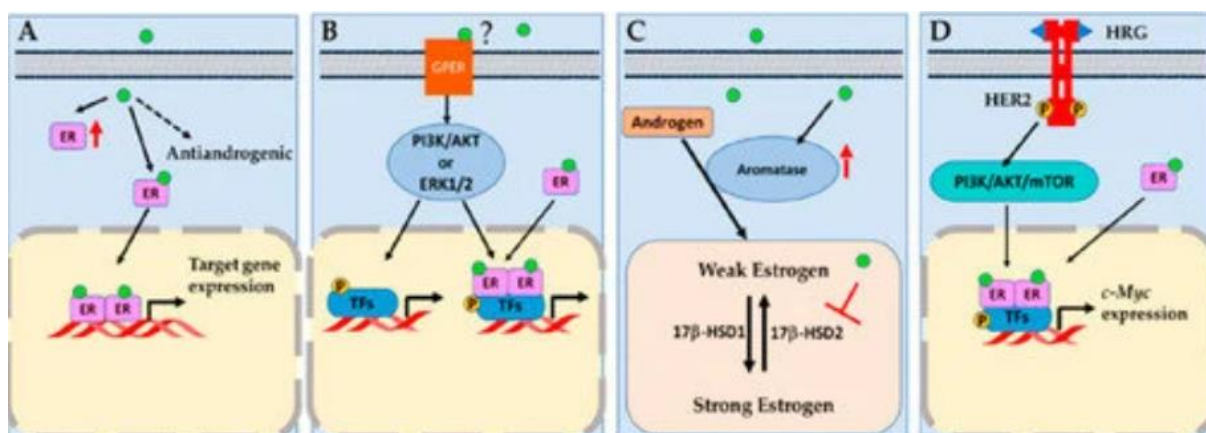
U posljednje vrijeme fokus istraživača usmjeren je na međudjelovanje parabena i materijala nanometarskih veličina, a u to smislu, od naročitog je interesa mirko- i nanoplastika. Ogromna globalna proizvodnja i uporaba plastike odgovorna je za onečišćenje okoliša desecima milijuna tona plastičnog otpada koji se postupno razgrađuje u mikro- i nanočestice. Ljudi su izloženi mikro-i nanočesticama plastike putem hrane, pitke vode i proizvoda za osobnu higijenu u koje su takve čestice namjerno dodane (mehanički pilinzi i slično). Rezultati nedavnih istraživanja na staničnim modelima pokazuju da paraben i povećavaju proliferaciju stanica raka dojke osjetljivih na estrogen, a taj je učinak postao sinergistički u prisutnosti plastičnih nanočestica. Mehanizam iza sinergije mogao bi biti povezan sa svojstvima translokacije i adsorpcije nanoplastike, koja je služila kao trojanski konj za učinkovitije izlaganje stanica parabenima (Roje i sur., 2019). Takav neželjeni sinergistički učinak zabilježen je i za druge vrste nanočestica. Tako je pokazano da parabeni u značajno potpomažu unos nanosrebra (Domeradzka-Gajda i sur., 2017).

Uklapanjem estera p-hidroksibenzoata u lipidne nanočestice postiže se prilagođeno oslobađanje i smanjuje količina potrebitih konzervansa (Cerreto i sur., 2013). Nano propilhidroksibenzoat može se koristiti u ortopedskim zahvatima jer je djelotvoran na bakterijske sojeve koji su otporni na primjenu antibiotika dok ne narušava čvrstoću kosti i preživljenje osteoblasta (Perni i sur., 2015).

4.5. Zdravstveni rizici primjene parabena

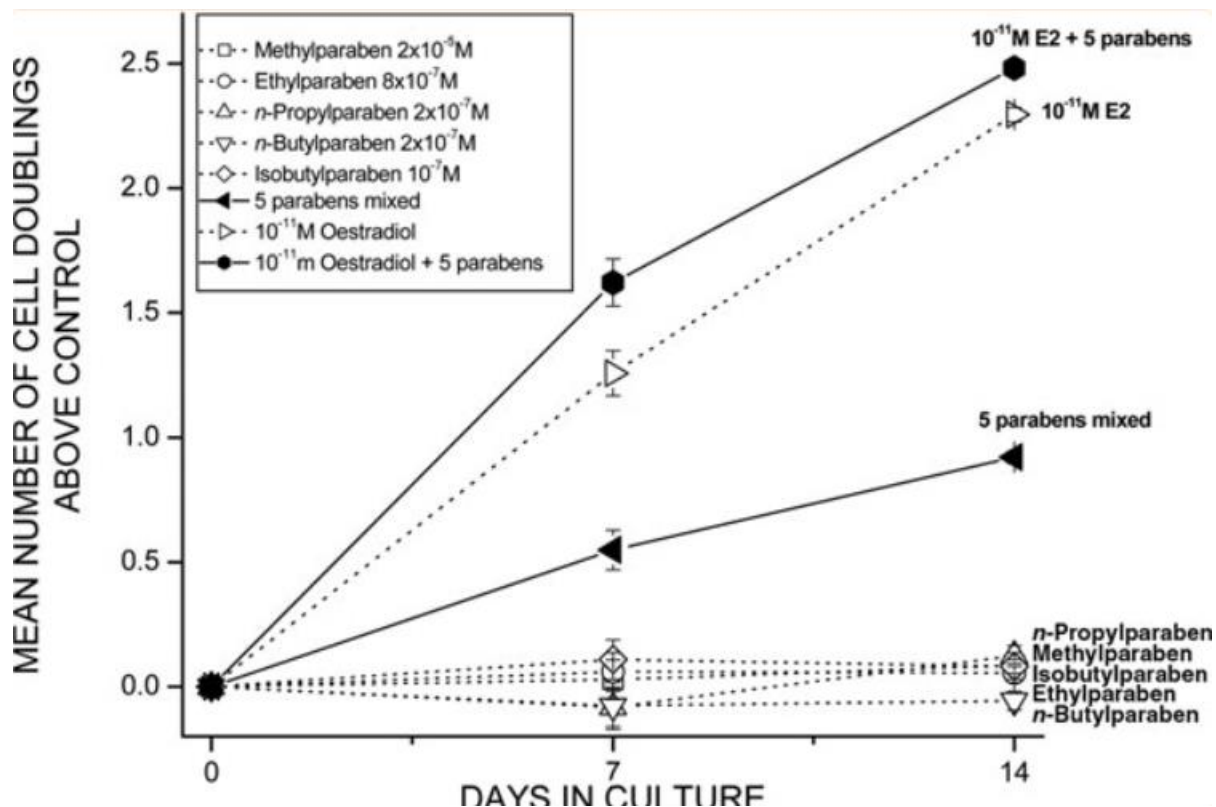
Prvi znanstveni radovi koji dovezuju parabene i nastanak karcinoma dojke objavljeni su 2004. godine. Darbre i sur. (2004) odredili su značajne količine parabena u tumorskim tkivima koja su bila uklonjena tijekom operativnog zahvata. Srednja koncentracija parabena u 20 analiziranih tumora iznosila je 20.6 ± 4.2 ng/g tkiva. Najzastupljeniji je bio metilparaben sa srednjom koncentracijom od 12.8 ± 2.2 ng/g tkiva (Darbre i sur. 2004). Ranije je na MCF-7 stanicama raka dojke kod ljudi pokazana estrogena aktivnost parabena, a uloga estrogena u patogenezi tumora dojke je nedvojbeno dokazana (Barr i sur. 2012). Ovi rezultati potaknuli su snažan interes da se detaljnije prouči povezanost parabena i nastanka tumora dojke. Dosadašnja istraživanja pokazuju kako su parabeni prisutni u 99% uzoraka tumora dojke u ljudi, posjeduju estrogenu aktivnost i mogu stimulirati stalnu proliferaciju stanica raka dojke u rasponu koncentracija koje određene u tkivu dojke. Nadalje, parabeni mogu inhibirati supresiju rasta

stanica raka dojke pomoću hidroksitamoksifena, a putem vezanja na receptor gama povezan s estrogenom mogu spriječiti njegovu deaktivaciju inhibitorima rasta. U tumorima raspona veličina od 10 nm-1 μ m, parabeni ovisno o dozi dovode do izostajanja apoptoze. Dugotrajna izloženost (>20 tjedana) parabenima dovodi do povećane migracijske i invazivne aktivnosti u ljudskim stanicama raka dojke, svojstava koja su povezana s procesom metastaziranja. Kao novo obilježje, pokazalo se da metilparaben u epitelnim stanicama dojki kod žena povećava mTOR, ključni regulator energetskeg metabolizma. Parabeni u visokim koncentracijama mogu u kratkom roku uzrokovati oštećenje DNK, ali su potrebna daljnja ispitivanja kako bi se istražili učinci parabena u niskim dozama. Sposobnost parabena da pogoduju većem broju procesa koji dovode do nastanka tumora dojke znakove raka u epitelnim stanicama ljudskih grudi daje temelj za daljnja ispitivanja njihove sigurnosti i eventualnu regulatornu reviziju njihove primjene u farmaceutskim i kozmetičkim pripravcima (Slika 2.) (Darbre i Harvey, 2014).



Slika 2. Predloženi mehanizmi poticajnog djelovanja parabena u tumoru. Vezanje za estrogeni receptor i utjecaj na transkripciju gena (a), interakcija sa transkripcijskim faktorima preko membranskog proteina G (b), djelovanje prema aromatazi i 17beta-hidroksisteroid dehidrogenazi (c), aktivacija onkogena putem HER2 receptora (d) (Preuzeto iz Haheer, Chen i Zhao (2022) uz dopuštenje izdavača).

Veća incidencija tumora dojke zabilježena je u ljudi koji su koristili više različitih dezodoransa. Pretpostavka je da pripravci za suzbijanje znojenja mogu poticati tumor dojke, a jedana od razloga je blizina žljezdanog tkiva mjestu primjene. Osim toga sinergističko djelovanje na dijeljenje tumorskih stanica iskazuju s niskim koncentracijama endogenog estradiola što je važno za razdoble predpuberteta i u postmenopauze (Slika 3.) (Darbre, 2009).



Slika 3. Utjecaj parabena, samih ili u kombinaciji sa 17 β -estradiolom (E2) na broj mitotski aktivnih tumorskih stanica (preuzeto iz Darbre, (2009) uz dopuštenje izdavača).

Kao što je već navedeno, parabeni pokazuju estrogensku aktivnost *in vitro*, ali je ta aktivnost vrlo niska. Iako se estrogena aktivnost povećava s duljinom alifatskog lanca parabena, njihova aktivnost je $2,5 \times 10^6$, $1,5 \times 10^5$, 3×10^4 i 1×10^4 puta niža od estradiola, fiziološkog agonista za estrogenske receptore. Također, ovdje valja istaknuti i veliku sklonost parabena hidrolitičkoj razgradnji *in vivo* (Petrić i sur., 2021). Mehanizam ksenoestrogenskog učinka parabena nije u potpunosti razjašnjen. Parabenski esteri se brzo metaboliziraju *in vivo* u relativno neaktivan metabolit pHBA, a nepoznato je u kojoj mjeri mikromolarne koncentracije parabena remete normalnu aktivnost estrogena ili funkcioniraju kao oponašatelj *in vivo*. Jedna hipoteza povezuje potencijalnu biološku aktivnost parabena u mikromolarnim koncentracijama s inhibicijom enzimske aktivnosti 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaze tipa 2, enzima za pretvorbu estrogena i androgena, što bi trebalo povećale pretvorbu estradiola u slabiji estron (Engeli i sur., 2007). Intakrini poticaj prema tumoru dojke metil- i propil- mogu ispoljavati povećanjem aromatazne aktivnosti (Slika 2.) Dok je druga studija otkrila da parabeni inhibiraju aromatazu, enzim koji je uključen u korak ograničavanja brzine u steroidogenezi, za jedan red veličine manje od onog koji inducira proliferaciju stanične linije raka dojke MCF-7, potencijalno ukazujući na jači antiestrogeni učinak (Wróbel i sur., 2014). Pokazalo se da su izopropil-, butil- i benzilparaben

inhibitori aromataze, ali takva inhibicija zahtijeva mikromolarnu koncentraciju parabena koja je nekoliko redova veličine viša od koncentracije (u nmol L^{-1}) prethodno nađene u tkivu ljudske dojke (Petrić i sur., 2021).

Novija istraživanja upućuju na selektivno nakupljanje parabena u tumorskom tkivu dojke. Rezultati nedavne studije pokazuje da su koncentracije propil i butilparabena bile značajno više u tkivu malignih tumora u usporedbi s razinama u tkivu benignih tumora dojke, no autori za sada ne uspijevaju objasniti mehanizam koji bi doveo do takvog rezultata (Dovns i sur., 2023). Iako prisutnost neke tvari u tumoru dojke se ne može smatrati dokazom da ta tvar dovodi do razvoja tumora, ipak je poticaj za razmatranje funkcionalne uključenosti parabena u procese razvoja bolesti. Sa složenom epidemiologijom i različitim kliničkim manifestacijama benigni i zloćudni tumori dojke moraju se smatrati bolestima s višefaktorskim podrijetlom i čini se malo vjerojatnim da bi bilo koja tvar imala sveukupno dominantnu ulogu. U tom svjetlu treba razmatrati rezultate studije na staničnim modelima koji pokazuju da su HER ligandi povećali moć butilparabena da stimulira ekspresiju onkogeni i proliferaciju stanica raka dojke *in vitro* putem estrogenskog receptora α , što sugerira da bi parabeni mogli biti aktivni pri razinama izloženosti koje se prethodno nisu smatrale toksikološki relevantnima (Pan i sur., 2015). Također, čini se da i genetsko podrijetlo ima značajan utjecaj na reakciju organizma na parabene, pa je odgovor različit u ljudi različite rase (Tapia i sur., 2023).

Iako su navodi o ksenoestrogenosti i toksičnosti parabena potkrijepljene velikim brojem *in vitro* i *in vivo* dokaza na životinjama, stvarni utjecaj na ljudsko zdravlje, ako ga ima, nije poznat. Također, nalazi parabena u ljudskom tkivu i tekućinama nisu pokazali uvjerljive dokaze toksičnosti povezane s parabenom, niti je utvrđena nedvojbeno uzročna povezanost. Nesmotreno izbacivanje parabena iz farmaceutskih i kozmetičkih proizvoda alternativnim zamjenama koje su manje istražene, moguće toksične ili nesigurne, može dovesti do ozbiljnih štetnih učinaka i rizika za ljudsko zdravlje (Petrić i sur., 2021).

Osim karcinogenosti, za parabene su dostupni i navodi o reproduktivnoj toksičnosti. Neka istraživanja pokazuju da je razina propilparabena u žena u negativnom je odnosu sa brojem antralnih folikula što ukazuje na smanjenu rezervu jajnika (Smith i sur., 2013; Jurewicz i sur., 2020). U prilog snižene plodnosti govori i istraživanje kohorte žena reproduktivne dobi koje su imale manju razinu anti-Müllerova hormona uz istovremeno prisutne propil, butil i heptil parabene u urinu (Ao i sur., 2023). Neka istraživanja ukazuju da benzoatni esteri parabena možda nepovoljno djeluju na plodnost muškaraca, naime povezuju se sa sniženom mitohondrijskom aktivnosti u testisu, a produkcija reaktivnih kisikovih vrsta može imati loš

utjecaj na pokretljivost spermatozoida (Tavares i sur., 2009; Virant-Klun, Imamovic-Kumalic i Pinter, 2022). Suprotno tome, neki radovi donose drugačije rezultate. Istraživanje na muškarcima tako pokazuje da najčešće prisutni parabeni u proizvodima široke potrošnje, propil i metilparaben ne utječu na kvalitetu sperme (Nishihama i sur., 2017).

Neka prijašnja istraživanja ukazivala su da butil i propilparaben smanjuju razinu testosterona u životinja, no novija istraživanja tvrde da etil i metilparaben nemaju značajan utjecaj na razinu muških spolnih hormona (Oishi, 2004). Shodno tome, oralna primjena metilparabena u dozama od čak 10 000 ppm tijekom 8 tjedana ne narušavaju proizvodnju, pokretljivost niti morfologiju spermija u štakora (Hoberman i sur., 2008).

Naprotiv, kod ženskih životinja parabeni mogu umanjiti reproduktivni potencijal bilo narušavanjem jajne ovojnice u riba, povećanjem uterine težine, stvaranjem cističnih tvorbi te stanjenjem vanjskog sloja folikula u skupini glodavaca, te pojačanim parametrima oksidacijskog stresa u masnim stanicama (Popa i sur., 2011; Vo i sur., 2010).

Propilparaben ima veći potencijal uzorkovanja štetnih posljedica na reproduktivne organe, stoga su i njegove dozvoljene koncentracije značajno niže u odnosu na one za metilparaben. Primjerice, u tekućim otopinama i suspenzijama najveća dozvoljena koncentracija propilparabena je od 0,02 do 0,06% za razliku od metilparabena, čija je dopuštena količina od 0,015 do 0,2% (Petrić, Ružić i Žuntar, 2021).

Neke studije izloženost parabenima povezuju s prekomjernom tjelesnom težinom u djece i odraslih. U pravilu, žene s prekomjernom težinom češće obolijevaju od karcinoma. U masnom tkivu dojke jače je izražena aktivnost enzima aromataze koji pretvara testosteron u estrogen te je veći broj estrogenskih receptora. Stoga su žene s većim indeksom tjelesne mase osjetljivije na kemijske tvari koje narušavaju funkciju hormona. Važna je i raspodjela masti jer se karcinom pozitivan na estrogen i progesteron češće otkriva u preuhranjenih žena s većom količinom visceralne masnoće (Krpina i sur., 2018).

Rezultati istraživanja provedenog u Kanadi pokazuju da su povećane koncentracije propilparabena u urinu povezane s 40% višom prevalencijom metaboličkog sindroma među muškarcima. Među ženama, metil paraben je obrnuto povezan s pretilošću, a razine metil, propil i etilparabena u urinu povezane su s višim razinama HDL kolesterola u krvi (Kim i Chevrier, 2020). Visoke razine propil i metilparabena određene u krvi žena s indeksom tjelesne mase većim od 25 također mogu biti jednim od razloga metaboličkih promjena. Povećana masa

i kardiometaboličke komplikacije povezuju se sa sniženom razinom glukagona i leptina i povišenim adiposinom (Kolatorova i sur. 2018).

Parabeni prelaze placentu i mogu polučiti promjene u djece. Pokazano je da majke izložene butil esteru u trudnoći rađaju potomke s više masnog tkiva čije je nastajanje kontroliranom androgenim hormonima (Højsager i sur., 2021). Majke koje su tijekom trudnoće imale visoke razine propilparabena u urinu u pravilu rađaju pretilu djecu, a utvrđena je i veza koncentracije parabena i stupnja pretilosti. Što je koncentracija parabena tijekom trudnoće bila viša, to je viši stupanj pretilosti djeteta tijekom prvih 5 godina života (Berger i sur., 2021).

Jedan od mehanizama promjene antropometričkih parametara kod muškaraca jest poticaj hidroksibenzoata na sazrijevanje adipocita. Osim toga učestaliji unos manjih količina parabena povezuju se i s nižim rastom (Guo i sur., 2017). Potomci čije su majke bile izložene butilparabenu imaju niže koncentracije leptina. Smatra se da butilparaben doprinosi lošijoj kontroli apetita djece i to tako što remeti hipotalamičku POMC (eng. Pro-opiomelanocortin enhancer 1) os. Osim na potomke, smatra se da najčešće korišteni parabeni utječu na povećanje tjelesne mase trudnica, pri čemu je dobitak na težini posebno izražen tijekom prvog trimestra, a može biti značajan i u ostalim mjesecima trudnoće (Wen i sur., 2020)

Na velikom broju ispitanika u Kini pokazano je da visoka razina parabena u krvi se može povezati s povećanim rizikom od obolijevanja od dijabetesa tip II, no točan mehanizam učinka parabena na razvoj te bolesti nije poznat (Song i sur., 2023). Također, istraživanje nije isključilo utjecaj drugih rizičnih čimbenika. S druge strane, istraživanje provedeno u Sjedinjenim Američkim Državama je pokazalo osobe s povećanom koncentracijom parabena u urinu imaju manji rizik od dijabetesa (Ward, Casagrande i Cowie, 2022). S obzirom na sveprisutnost parabena i stalnu izloženost primjenom farmaceutskih i kozmetičkih pripravaka, potrebne su detaljnije studije koje će omogućiti sveobuhvatnije razumijevanje njihove veze s dijabetesom, ukoliko ta veza uopće i postoji.

5. Zaključci

Parabeni su široko korišteni i učinkoviti konzervansi. Njihovi toksični učinci, parabenima uzorkovani endokrini poremećaji, karcinogenost ili genotoksičnost koja se često ističe kao veliki zdravstveni rizik povezan s njihovom primjenom nikada nisu potvrđeni kod ljudi. Nadalje, njihov afinitet za estrogenske receptore je od 2,5 milijuna do 10 000 puta manji u usporedbi s estradiolom. Iako su teoretski nedoumice vezane uz aktivnost parabena, ksenoestrogenost i toksičnost potkrijepljene brojnim *in vitro* i *in vivo* dokazima na animalnim modelima, stvarni utjecaj, ako ga ima, na ljudsko zdravlje još nije razjašnjen. Također, nalazi parabena u ljudskom tkivu i tekućinama nisu pokazali uvjerljive dokaze toksičnosti povezane s parabenima, niti je utvrđena nedvojbeno uzročna povezanost. Neoprezno uklanjanje parabena iz farmaceutskih oblika i kozmetičkih proizvoda alternativnim zamjenama koje su manje istražene, moguće toksične ili nesigurne, može dovesti do ozbiljnih štetnih učinaka i rizika za ljudsko zdravlje. Kako znanstveni dokazi o toksičnosti parabena i endokrinom poremećaju kod ljudi još uvijek nedostaju, parabeni se i dalje smatraju sigurnima za primjenu u farmaceutskim oblicima lijekova i kozmetici. No, što se tiče sigurnosti kao i toksičnosti parabena, treba uzeti u obzir mjere opreza jer postoje neke sumnje i još uvijek nedostaju potpuna znanstvena saznanja. Međutim, potrebno je više istraživanja kako bi se prevladale znanstvene praznine i kontroverze o njima kako bi se pružili točni odgovori na neriješena pitanja.

6. Popis kratica, oznaka i simbola

AHTN - 6-acetil-1,1,2,4,4,7-heksametiltetralin

CMR - karcinogene, mutagene i reproduktivno toksične kemikalije (eng. *Carcinogenic, Mutagenic and toxic for Reproduction*)

EDC - tvari koje remete ravnotežu hormona (eng. *Endocrine Disrupting Chemicals*)

EDQM - Europska direkcija za kvalitetu lijekova & zdravstvenu skrb (eng. *European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCareI*)

EFSA - Europska agencija za sigurnost hrane (eng. *European Food Safety Authority*)

EMA - Europska agencija za lijekove (eng. *European Medicines Agency*)

FDA - Američka agencija za hranu i lijekove (eng. *U.S. Food and Drug Administration*)

HHCB - 1,3,4, 6,7,8-heksahidro-4,6,6,7,8,-heksametilciklopenta(g)-2-benzopiran

MP - metilparaben

NOAEL - doza bez štetnog učinka (eng. *Not Observed Adversed Effect*)

p-HBK - ester p-hidroksibenzojeve kiseline

REACH - Uredba o registraciji, evaluaciji, autorizaciji i ograničavanju kemikalija (eng. *The Regulation on the registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals*)

SCCS - Znanstveni odbor za sigurnost potrošača (eng. *Scientific Committee on Consumer Safety*)

7. Literatura

Abbas S, Greige-Gerges HG, Karam N, Piet MH, Netter P, Magdalou J. Metabolism of parabens (4-hydroxybenzoic acid esters) by hepatic esterases and UDP-glucuronosyltransferases in man. *Drug metab Pharmacokinet*, 2010, 25, 568-577.

Al-Halaseh LK, Al-Adaileh S, Mbaideen A, Hajleh MNA, Al-Samydai A, Zakaraya ZZ, Dayyih WA. Implication of parabens in cosmetics and cosmeceuticals: Advantages and limitations. *J Cosmet Dermatol*, 2022, 21, 3265-3271.

Álvarez MA, Ruidíaz-Martínez M, Cruz-Quesada G, López-Ramón MV, Rivera-Utrilla J, Sánchez-Polo M, Mota AJ. Removal of parabens from waer by UV-driven advanced oxidation processes. *Chem Ing J*, 2020, 379, 122334

Alwadi D, Felty Q, Roy D, Yoo C, Deoraj A. Enviromental Phenol and Paraben Exposure Risks and Their Potential Influence on the Gene Expression Involved in the Prognosis of Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*, 2022, 23, 3679

Andersen A. Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as use din cosmetic products. *Int J Toxicol*, 2008, 1-82

Ao J, Qiu W, Huo X, Wang Z, Wang W, Zhang Q, Liu Z, Zhang J. Paraben exposure and couple fecundity: a preconception cohort study. *Hum Reprod*, 2023, 38, 726-738

Barabasz W, Pikulicka A, Wzorek Z, Nowak A K. Ecotoxicological aspects of the use of parabens in the production of cosmetics. *Technical Transactions*, 2019, 12, 103-104

Barr L, Metaxas G, Harbach CAJ, Savoy LA, Darbre PD. Measurment of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. *J Appl Toxicol*, 2012, 32, 219-232

Berger K, Hyland C, Ames JL, Mora AM, Huen K, Eskenazi B, Holland N, Harley KG. Prenatal Exposure to Mixtures of Phtalates, Parabens, and Other Phenols and Obesity in Five-Year-Olds in the CHAMACOS Cohort. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18, 1796

Bergquist PA, Kemp EA, Seburg RA, Zhu LM. Acceleration of paraben sorption to polyethylene terephthalate: A freeze-thaw phenomenon. *PDA J Sci Tech*, 2006, 60, 240-247

Błędzka D, Gromadzinska J, Wasowicz W. Parabens. From enviromental studies to human health. *Environ Int*, 2014, 67, 27-42.

Bolujoko NB, Unuabonah EI, Alfred MO, Ogunlaja A, Ogunlaja OO, Omorogie MO, Olukanni OD. Toxicity and removal of parabens from water: A critical review. *Sci tot Envirom*, 202, 792, 148092

Canosa P, Rodríguez I, Rubí E, Negreira N, Cela R. Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 575, 106-113

Cerreto F, Paolicelli P, Cesa S, Amara HMA, D'Auria FD, Simonetti G, Casadei MA. Solid Lipid Nanoparticles as Effective Reservoir Systems for Long-Term Preservation of Multidose Formulations. *AAPS PharmSciTech*, 2013, 14, 847-853

Darbre DP, Harvey WP. Parabens can enable hallmarks and characteristics of cancer in human breast epithelial cells: a review of the literature with reference to new exposure data and regulatory status. *J of Appl Toxicol*, 2014, 34, 925-938

Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ, Pope GS. Concentrations of parabens in human breast tumors. *J Appl Toxicol*, 2004, 24, 5-13

Darbre PD. Uderarm antiperspirants/deodorants and breast cancer. *Breast Cncer Res*, 2009, 11, 1-5

Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudace LC, Hauser LC, Prins GS, Soto AM, Zoeller ET, Gore AC. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statemet. *Endocr Rev*, 2009, 30, 293-342.

Dodge EL, Kelly EK, Williams LP, Williams AM, Diaz HS, Missmer AS, Hauser R. Medications as a source of paraben exposure. *Reprod Toxicol*, 2015, 52, 93-100.

Domeradzka-Gajda K, Nocún M, Roszak J, Janasik B, Quarles JrCD, Wqsowicz W, Grobenly J, Tomaszewska E, Celichowski G, Ranszek-Soliwoda K, Cieślak M, Puchowicz D, Gonzales JJ, Russo RE, Stępnik M. A study on the in vitro percutaneous absorption of silver nanoparticles in combination with aluminium chloride, methyl paraben or di-n-butyl phtalate. *Toxicol Lett*, 2017, 272, 38-48

Downs CA, Amin MM, Tabatabaeian M, Chavoshani A, Amjadi E, Afshari A, Kelishadi R. Parabens preferentially accuulate in metastatic breast tumors compared to benign breast tumors and the association of breast cancer risk factors with paraben accumulation. *Enviromental Advances*, 2023, 11, 100325

Elmore SE, Cano-Sancho G, Merrill MA. Disruption of normal adipocyte development and function by methyl- and propyl- paraben exposure. *Toxicol Lett*, 2020, 334, 27-35

Engeli RT, Rohrer SR, Vuorien A, Herdlinger S, Kaserer T, Leugger S, Schuster D, Odermatt A. Interference of Paraben Compounds with Estrogen Metabolism by Inhibition of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenases. *Int J Mol Sci*, 2017, 18, 2007

Flasinski M, Kowal S, Broniatowski M, Wydro P. Influence of Parabens on Bacteria and Fungi Cellular Membranes: Studies in Model Two-Dimensional Lipid Systems. *J Phys Chem B*, 2018, 122, 2332-2340

Gao J, Ce D, Du X, Zheng Z, Jing H, Wang N. Imidazolidinyl urea activates mast cells via MRGPRX2 to induce non-histaminergic allergy. *Toxicol Res*, 2021, 10, 467-475

Głaz P, Rosinska A, Woźniak S, Boguszewska-Czubara A, Biernasiuk A, Matosiuk D. Effect of Commonly Used Cosmetic Preservatives in Healthy Human Skin Cells. *Cells*, 2023, 12, 1076

Golden R, Gandy J, Vollmer G. A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Crit Rev Toxicol*, 2005, 35, 435-458

Guarnotta V, Amodei R, Frasca F, Aversa A, Giordano C. Impact of Chemical Endocrine Disruptors and Hormone Modulators on the Endocrine System. *Int J Mol Sci*, 2022, 23, 5710

Guo J, Wu C, Lu D, Jiang S, Liang W, Chang X, Xu H, Wang G, Zhou Z. Urinary paraben concentrations and their associations with anthropometric measures of children aged 3 years. *Environ Pol*, 2017, 222, 307-314

Hager E, Chen J, Zhao L. Minireview: Parabens Exposure and Breast Cancer. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19, 1873

Handa O, Kokura S, Adachi S, Takagi T, Naito Z, Tanigawa T, Yoshida N, Yoshikawa T. Methyparaben potentiates UV-induced damage of skin keratinocytes. *Toxicol*, 2006, 227, 62-72

Hatekeyama H, Ito T, Sawada H, Ikegami T, Mizuguchi Z, Harada T. Influence of Ethyl Paraben (Ethyl p-Hydroxybenzoate) on Medaka, *Oryzias latipes*. *Jap J Environ Toxicol*, 2003, 6, 65-72.

Hazarika MK, Parajuli R, Phukan P. Syntesis of parabens using montmorillonite K10 clay as catalyst: A green protocol. *Ind J Chem Tech*, 2007, 14, 104-106.

Herman A. Comparison of Antimicrobial Activity of Essential Oils, Plant Extracts and Methylparaben in Cosmetic Emulsions: 2 Months Study. *Indian J Microb*, 2004, 54, 361-364

Hoberman AM, Schreur DK, Leazer T, Daston GP, Carthew P, Re T, Loretz L, Mann P. Lack of effect of butylparaben and methylparaben on the reproductive system in male rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2008, 83, 123-133

Højsager FD, Kyhl HB, Frederiksen H, Juul A, Andersson AM, Andersen MS, Grøntved A, Jensen TK. Prenatal Exposure to Butyl Paraben Is Associated With Fat Percentage in 7-Year-Old Boys. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106, 2633-2638

Hussein SE, Muret P, Berard M, Makki S, Humbert P. Assessment of principal parabens use in cosmetics after their passage through human epidermis-dermis layers (ex-vivo study). *Exp Dermatol*, 2007, 16, 830-836

Inactive Ingredient in Approved Drug Products search: Frequently Asked Questions, 2019., <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/inactive-ingredients-approved-drug-products-search-frequently-asked-questions>, pristupljeno 01.07.2023.

Ishitawari S, Suzuki T, Hitomi T, Yoshino T, Matsukuma S, Tsuji T. Effects of methyl paraben on skin keratinocytes. *J Appl Toxicol*, 2007, 27, 1-9

Jin-Ju J, Dong-Hyun K. Effects of Cosmetics and Their Preservatives in the Growth and Composition of Human Skin Microbiota. *J of the Soc Cos Sci of Korea*, 2015, 41, 127-134

Jurewicz J, Radwan M, Wielgomas B, Karwacka A, Klimowska A, Kałużny P, Radwan P, Hanke W. Parameters of ovarian reserve in relation to urinary concentrations of parabens. *Environmental Health*, 2020, 26, 19-26

Kim J, Chevrier J. Exposure to parabens and prevalence of obesity and metabolic syndrome: An analysis of the Canadian Health Measures Survey. *Sci Total Environ*, 2020, 713, 135116

Kolatorova L, Sramkova M, Vitku J, Vcelak J, Lischkova O, Starka L, Duskova M. Parabens and Their Relation to Obesity. *Physiol Res*, 2018, 67, 465-472

Krpina M, Knez L, Belančić A, Georgev P, Demaria M, Avirović M, Kosmat M, Lovasić F, Mustačić E. Povezanost količine i distribucije masnog tkiva s tumorskim karakteristikama invazivnog karcinoma dojke u postmenopausalnih žena. *Med fluminen*, 2018, 54, 385-392

Lee N-K, Paik H-D. Status, Antimicrobial Mechanism, and Regulation of Natural Preservatives in Livestock Food Systems. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 2016, 547-557

Leppert B, Strunz S, Seiwert B, Schlittenbauer L, Schlichting R, Pfeiffer C, Röder S, Bauer M, Borte M, Stangl GI, Schöneberg T, Schulz A, Karkossa I, Rolle-Kampczyk UE, Thürmann L, Bergen vM, Escher BI, Junge KM, Reemtsma T, Lehmann I, Polte T. Maternal paraben exposure triggers childhood overweight development. *Nat Commun*, 2020, 11, 561

Li W, Shi Z, Gao L, Liu J, Cai Y. Occurance, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 300, 29-38

Lillo MA, Nichols C, Perry C, Runke S, Krutilina R, Seagroves TN, Miranda-Carboni GA, Krum SA. Methyparaben stimulates tumor initiating cells in ER+ breast cancer models. *J of App Toxicol*, 2016, 37, 417-425

Lincho J, Martins CR, Gomes J. Paraben Compounds-Part I: An Overview of Their Characteristics, Detection, and Impacts. *Appl Sci*, 2021, 11, 2307

Lundqvist A, Andersson E, Ahlberg I, Nilbert M, Gerdtham U. Socioeconomic inequalities in breast cancer incidence and mortality in Europe-a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Public Health*, 2016, 26, 804-813.

Ma W L, Zhao X, Lin Z Z, Mohammed M O A, Zhang Z F, Liu L Z, Song W W, Li Z F. A survey of parabens in commercial pharmaceuticals from China and its implications for human exposure. *Enviroment international*. 2016, 95, 30-35

Maki DG, Ash SR, Winger RK, Lavin P, Azeptic TI. A novel antimicrobial and antithrombotic lock solution for hemodialysis catheters: a multi-center, controlled, randomized trial. *Crit Care Med*, 2011, 39, 613-620

Manasa G, Mascarenhas RJ, Basavaraja BM. Sensitive-selective determination of Propyl Paraben preservative based on synergistic effects of polyaniline-zinc-oxide nano-composite incorporated into graphite paste electrode. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 184, 100529

Mariño-González I, Quintana JB, Rodríguez I, Cela R. Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC_QTOF-MS). *Water Res*, 2011, 45, 6770-6780.

Maurício E, Rosado C, Duarte PM, Verissimo J, Bom S, Vasconcelos L. Efficiency of Nisin as Preservative in Cosmetics and Topical Products. *Cosmetics*, 2017, 4, 41

McGrath KG. An earlier age of breast cancer diagnosis related to more frequent use of antiperspirants/deodorants and underarm shaving. *Eur J Cancer Prev*, 2003, 12, 479-485.

Moos R K, Angerer J, Dierkes G, Bruning T, Kch H M. Metabolism and elimination of mwthyl, iso- and n-butyl paraben in human urine after single oral dosage. *Arch Toxicol*. 2016, 90, 2699-2709

Murata W, Yamaguchi Z, Fujita KI, Yamauchi K, Tanaka T, Ogita A. Enhancement of paraben-fungicidal activity by sulphoraphane, a cruciferous vegetable-derived isothiocyanate, via membrane structural damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Lett Appl Microbiol*, 2019, 69, 403-410

Murphy B, Hoptroff M, Arnold D, Eccles R, Campbell-Lee S. *In-vivo* impact of common cosmetic preservative system sin full formulation on the skin microbiome. *Plos one*, 2021, 16, 1-13

Mustać E, Jonjić N, Molek KR, Avirović M. Uloga patologa u dijagnostici i terapiji pacijenata s karcinomom dojke. *Med Flumin*, 2016, 52, 257-361

Neves ER, Schäfer S, Phillips A, Canejo J, Macedo MF. Antifungal effect of different methyl and propyl paraben mixtures on the treatment of paper biodeterioration. *Internat Biodeter & Biodegrad*, 2009, 63, 267-272

Nguyen T, Clare B, Guo W, Martinac B. The effects of parabens on the mechanosensitive channels of *E. coli*. *Eur Biophys J*, 2005, 34, 389-395

Nishihama Z, Toshima H, Yoshinaga J, Mizumoto Z, Yoneyama M, Nakajima D, Shiraishi H, Tokuoka S. Paraben enposure and semen quality of Japanese male partners of subfertile couples. *Envirom Health and Prev Med*, 2017, 22, 5

Nowak K, Jabłońska E, Ratajczak-Wrona W. Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environ Res*, 2021, 198, 110488

Oishi S. Lack of spermatotoxic effects of methyl and ethyl esters of p-hydroxybenzoic aci din rats. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42, 1845-1849.

Okubo T, Yokoyama Z, Kano K, Kano I. ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation on human breast cancer MCF-7 cells and expression on ER alfa i PF. *Food Chem Toxicol*. 2001, 39, 1225-1232

Pan S, Yuan C, Tagmount A, Rudel RA, Ackerman JM, Yaswen P, Vulpe CD, Leitman DC. Parabens and Human Epidermal Growth Factor Receptor Ligand Cross-Talk in Breast Cancer Cells. *Environ Health Perspect*, 2016, 124, 563-569

Perni S, Thenault V, Abdo P, Margulis K, Magdassi S, Prokopovicz P. Antimicrobial activity of bone cements embadded with organic nanoparticles. *Int J Nanomedicine*, 2015,10, 6317-6329

Petrić Z, Ružić J, Žuntar I. The controversis of parabens – an overview nowadays. *Acta Pharm*, 2021, 71, 17-32

Popa DS, Kiss B, Vlase L, Pop A, Iepure R, Paltiean R, Loghin F. Study of oxididative stress induction after exposure to bisphenol a and methylparaben in rats. *Farmacia*, 2011, 59, 4

Quevrain E, Coulon I D, Pernice M, Kondracki M L B. Novel natural parabens produced by a Microbulbifer bacterium in its calcareous sponge host *Leuconia nivea*. *Environ Microbiol*, 2009, 11, 1527-1539

Ramaswamy BR, Kim JW, Isobe T, Chang KH, Amano A, Miller TW, Siringan FP, Tanabe S. Determination of preservative and antimicrobial compound in fish from Manila Bay, Philippines usng ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, and assessment of human dietary exposure. *J Hazard mater*, 2011, 192, 1739-1745.

Ran J, Li M, Zhang C, Xue F, Tao F, Zhang W. Synergistic Adsorption for Parabens by an Amphiphilic Functionaized Polypropylene Fiber with Tunable Surface Microenviroment. *ACS Omega*, 2020, 5, 2920-2930.

Reeder M, Atwater AR. Perabens: The 2019 Nonallergen of the Year. *Cutis*, 2019, 103, 192-193

Roje Ž, Ilić K, Galić E, Pavičić I, Turčić P, Stanec Z, Vinković Vrček I. Sinergistic effects of parabens and plastic nanoparticles on proliferation of human breast cancer cells. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2019, 70, 310-314.

Schlumpf M, Cotton B, Conscience M, Haller V, Steinmann B, Lichtensteiger W. In vitro and in vivo estrogenicity of UV screens. *Enviroment Health Perspect*, 2001, 109, 239-244

Selveraj KKč Sivakumar S, Sampath S, Shanmugam G, Sundaresan U, Ramaswamy BR. Paraben resistance in bacteria from sewage treatment plant effluents in India. *Water Sci Technol*, 2013, 68, 2067-2073

Sheskey PJ, Cook WG, Cable CG. Handbook of Pharmaceutical Excipients, London, Washington, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Associations, 2016, str. 78-82, 270-273, 441-445, 596-598.

Shin M-Y, Shin C, Choi JW, Lee J, Lee S, Kim S. Pharmacokinetic profile of propyl paraben in humans after oral administration. *Environ Inter*, 2019, 130, 104917

Smith KW, Souter I, Dimitriadis I, Ehrlich S, Williams PL, Calafat AM, Hauser R. Urinary Paraben Concentrations and Ovarian Aging among Women from a Fertility Center. *Environ Health Perspect*, 2013, 12, 1299-1305

Song Z, Wang M, Nie L, Liao W, Wei D, Wang L, Wang J, Xu Q, Huan C, Jia Z, Mao Z, Wang C, Huo W. Exposure to parabens and dysglycemia: Insights from a Chinese population. *Chemosph*, 2023, 340, 139868

Tade SR, More MP, Chatap VK, Deshmukh PK, Patil PO. Safety and Toxicity Assessment of Parabens in Pharmaceutical and Food Products. *Inventi Rapid: Pharmacy Practice*. 2018,

Tapia JL, McDonough JC, Cauble EL, Gonzales CG, Tete DK, Treviño LS. Parabens Promote Protumorigenic Effects in Luminal Breast Cancer Cell Lines With Diverse Genetic Ancestry. *J of Endocrin Soc*, 2023, 7, 1-13

Tavares RS, Martins FC, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J, Peixoto FP. Parabens in male infertility-is there a mitochondrial connection? *Reprod Toxicol*, 2009, 27, 1-7

Thiemann A. The formulator's guide to safe cosmetic preservation. *Personal care*, 2014, 39-43

Tong HJ, Elmore S, Huang S-S, Tachachartvanich P, Manz K, Pennell K, Wilson DM, Borowsky A, Merrill AM. Chronic Exposure to Low Levels of Parabens Increases Mammary Cancer Growth and Metastasis in Mice. *Endocrinology*, 2023, 164, 1-14

Tong JH, Elmore S, Huang SS, Tachachartvanich P, Manz K, Pennell K, Wilson MD, Borowsky A, Merrill ML. Chronic Exposure to Low Levels of Parabens Increases Mammary Cancer Growth and Metastasis in Mice. *Endocrinology*, 2023, 164, 1-14

Virant-Klun I, Imamovic-Kumalic S, Pinter B. From Oxidative Stress to Male Infertility: Review of the Associations of Endocrine-Disrupting Chemicals (Bisphenols, Phthalates, and Parabens) with Human Semen Quality. *Antioxidants*, 2022, 11, 1617

Vo TBT, Yoo YM, C KC, J EB. Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reprod Toxicol*, 2010, 29, 306-316

- Ward JB, Casagrande SS, Cowie CC. Urinary phenols and parabens and diabetes among US adults, NHANES 2005-2014. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2022, 30, 768-776
- Weatherly LM, Gosse JA. Triclosan Exposure, Transformation, and Human Health Effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2017, 20, 447-469
- Wen Q, Zhou Z, Wang Z, Li J, Zhao H, Liao J, Liu H, Li Z, Cai Z, Xia W. Association between urinary paraben concentrations and gestational weight gain during pregnancy. *J of Exp Sci & Environ Epidemiol*, 2020, 30, 845-855
- Wróbel AM, Gregoraszczyk EL. Actions of methyl-, propyl- and butylparaben on estrogen receptor- α and - β and the progesterone receptor in MCF-7 cancer cells and non-cancerous MCF-10A cells. *Toxicol Lett*, 2014, 230, 375-381
- Yang CW. Parabens Increase Sulfamethoxazole-,Tetracycline- and Paraben -Resistant Bacteria and Reshape the Nitrogen/Sulfur Cycle-Associated Microbial Communities in Freshwater River Sediments. *Toxics*, 2023, 11, 387
- Zhou H-T, Chen H-C, Ding W-H. Accurate analysis of parabens in human urine using isotope-dilution ultrahigh-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 150, 469-473

8. Sažetak/Summary

Cilj ovog diplomskog rad je opisati djelovanje estera p-hidroksibenzoatne kiseline kao pomoćnih tvari koje dodaju različitim farmaceutskim oblicima te kozmetičkim proizvodima. Njihovom upotrebom postiže se odgovarajući rok trajnosti jer suzbijaju rast štetnih mikroorganizama. Osim kemijske stabilnosti i dobrog antifungalnog učinka, parabeni pokazuju minimalni učinak na mikrobiom kože. Najzastupljeniji su u farmaceutskim oblicima i kozmetičkim pripravcima koji se primjenjuju na kožu. Prosječan dnevni unos parabena u odraslih osoba varira između 1 µg/kg iz hrane i 0.833 mg/kg preko kozmetičkih pripravaka za njegu, zaštitu, čišćenje te parfimiranje kože. S obzirom da se brzo metaboliziraju u netoksične metabolite, njihova primjena se smatra sigurnom. Međutim, kronična primjena proizvoda konzerviranih parabenima može dovesti do njihovog nakupljanja u tkivima, no zdravstveni rizik koji može proizaći iz toga još nije poznat. U *in vitro* uvjetima pokazana je estrogena aktivnost parabena, pa se sumnja da mogu doprinijeti rastu o estrogenu ovisnih tumora. No ovdje se mora istaknuti kako je estrogenska aktivnost parabena od 2,5 milijuna do 10 000 puta manja u odnosu na fiziološki prisutan estrogen. Nadalje, izloženost parabenima u kombinaciji s ultravioletnim zračenjem može potaknuti nastanak reaktivnih kisikovih vrsta u staničnim kulturama keratinocita, no *in vivo* je taj učinak upitan. Kombinacijom parabena s drugim tvarima može se smanjiti njihova količina u pripravku, što što vodi smanjenoj izloženosti parabenima. Danas raste svijest o potrebi razvoja učinkovitijih metoda za uklanjanje parabena iz otpadnih voda, kako bi se isključio njihov potencijalno nepovoljan utjecaj na vodene organizme i ekosustav općenito.

The aim of this thesis is to describe the action of p-hydroxybenzoic acid esters as preservatives added to various pharmaceutical forms and cosmetic products. Their use enables to achieve an appropriate shelf life by suppressing the growth of harmful microorganisms. In addition to chemical stability and a good antifungal effect, parabens show a minimal effect on the skin microbiome. They are most represented in pharmaceutical dosage forms and cosmetic preparations that are applied to the skin. The average daily intake of parabens in adults varies between 1 µg/kg from food and 0.833 mg/kg via cosmetic preparations for skin care, protection, cleansing and perfuming. As they are quickly metabolized into non-toxic metabolites, their use is considered safe. However, chronic use of paraben-preserved products can lead to their accumulation in tissues, however, the health risk arising from that is yet unknown. Estrogenic activity of parabens has been demonstrated in vitro, so it is suspected that they may contribute to the growth of oestrogen-dependent tumours. However, it must be noted that the estrogenic activity of parabens is 2.5 million to 10,000 times lower than that of physiologically present oestrogen. Furthermore, exposure to parabens in combination with ultraviolet radiation can induce the formation of reactive oxygen species in keratinocyte cell cultures, but in vivo this effect is questionable. By combining parabens with other substances, their amount in the preparation can be reduced, which leads to reduced exposure to parabens. Today, there is a growing awareness of the need to develop more effective methods for removing parabens from wastewater, to exclude their potentially unfavourable impact on the aquatic organism and the ecosystem in general.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmaceutsku tehnologiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Izazovi primjene parabena kao konzervansa u farmaceutskim oblicima lijekova i kozmetici

Petra Ukić

SAŽETAK

Cilj ovog diplomskog rad je opisati djelovanje estera p-hidroksibenzoatne kiseline kao pomoćnih tvari koje dodaju različitim farmaceutskim oblicima te kozmetičkim proizvodima. Njihovom upotrebom postiže se odgovarajući rok trajnosti jer suzbijaju rast štetnih mikroorganizama. Osim kemijske stabilnosti i dobrog antimikrobnog učinka, parabeni pokazuju minimalni učinak na mikrobiom kože. Najzastupljeniji su u farmaceutskim oblicima i kozmetičkim pripravcima koji se primjenjuju na kožu. Prosječan dnevni unos parabena u odraslih osoba varira između 1 µg/kg iz hrane i 0.833 mg/kg preko kozmetičkih pripravaka za njegu, zaštitu, čišćenje te parfimiranje kože. S obzirom da se brzo metaboliziraju u netoksične metabolite, njihova primjena se smatra sigurnom. Međutim, kronična primjena proizvoda konzerviranih parabenima može dovesti do njihovog nakupljanja u tkivima, no zdravstveni rizik koji može proizaći iz toga još nije poznat. U *in vitro* uvjetima pokazana je estrogena aktivnost parabena, pa se sumnja da mogu doprinijeti rastu o estrogenu ovisnih tumora. No ovdje se mora istaknuti kako je estrogenska aktivnost parabena od 2,5 milijuna do 10 000 puta manja u odnosu na fiziološki prisutan estrogen. Nadalje, izloženost parabenima u kombinaciji s ultravioletnim zračenjem može potaknuti nastanak reaktivnih kisikovih vrsta u staničnim kulturama keratinocita, no *in vivo* je taj učinak upitan. Kombinacijom parabena s drugim tvarima može se smanjiti njihova količina u pripravku, što što vodi smanjenoj izloženosti parabenima. Danas raste svijest o potrebi razvoja učinkovitijih metoda za uklanjanje parabena iz otpadnih voda, kako bi se isključio njihov potencijalno nepovoljan utjecaj na vodene organizme i ekosustav općenito.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 31 stranicu, 3 grafička prikaza i 95 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Konzervansi, parabeni, sigurnost primjene, proestrogenski učinak

Mentor: **Dr. sc. Mario Jug**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Mario Jug** redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Viktor Pilepić, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Željka Vanić, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: siječanj 2024.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmaceutical Technology
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Challenges of parabens use as preservatives in pharmaceutical dosage forms and cosmetics

Petra Ukić

SUMMARY

This thesis aims to describe the action of p-hydroxybenzoic acid esters as preservatives added to various pharmaceutical forms and cosmetic products. Their use enables them to achieve an appropriate shelf life by suppressing the growth of harmful microorganisms. In addition to chemical stability and a good antimicrobial effect, parabens show a minimal effect on the skin microbiome. They are most represented in pharmaceutical dosage forms and cosmetic preparations that are applied to the skin. The average daily intake of parabens in adults varies between 1 µg/kg from food and 0.833 mg/kg via cosmetic preparations for skin care, protection, cleansing and perfuming. As they are quickly metabolized into non-toxic metabolites, their use is considered safe. However, chronic use of paraben-preserved products can lead to their accumulation in tissues, however, the health risk arising from that is yet unknown. The estrogenic activity of parabens has been demonstrated in vitro, so it is suspected that they may contribute to the growth of oestrogen-dependent tumours. However, it must be noted that the estrogenic activity of parabens is 2.5 million to 10,000 times lower than that of physiologically present oestrogen. Furthermore, exposure to parabens in combination with ultraviolet radiation can induce the formation of reactive oxygen species in keratinocyte cell cultures, but in vivo this effect is questionable. By combining parabens with other substances, their amount in the preparation can be reduced, which leads to reduced exposure to parabens. Today, there is a growing awareness of the need to develop more effective methods for removing parabens from wastewater, to exclude their potentially unfavourable impact on the aquatic organism and the ecosystem in general.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 31 pages, 3 figures and 95 references. The original is in the Croatian language.

Keywords: Preservatives, parabens, application safety, pro estrogenic effect

Mentor: **Mario Jug, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Mario Jug, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Viktor Pilepić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Željka Vanić, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: January 2023.