УДК: 615.014.2:615.451.35:578.81:615.26

О.А. Єрещенко, Л.С. Стрельников, Г.І. Кабачний, Є.І. Компанієць

РОЗРОБКА СКЛАДУ ПІННОГО ПРЕПАРАТУ З КОМПЛЕКСОМ БАКТЕРІОФАГІВ У АЕРОЗОЛЬНІЙ УПАКОВЦІ. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТИПУ ПРОПЕЛЕНТУ ТА ЙОГО КІЛЬКОСТІ

Національний фармацевтичний університет, м.Харків

Ключові слова: *антимікробна активність, секстафаг, емульсія (концентрат), пінний препарат, аерозоль, пропелент, аерозольний балон, тип видачі, зовнішній вигляд піни, «термін життя піни», відсоток виходу.*

Ключевые слова: *антимикробная активность, секстафаг, эмульсия (концентрат), пенный препарат, аэрозоль, пропеллент, аэрозольный баллон, тип выдачи, внешний вид пены, «время жизни пены», процент выхода.*

Key words: *antimicrobial activity of sexstaphagum, emulsion (concentrate), foamy preparation, aerosol, propellant, the aerosol bulb, type of delivery, original appearance of suds, «term of life of suds», percent of output.*

Експериментально встановлено, що тип пропеленту впливає на антимікробну активність піни. На підставі проведених мікробіологічних досліджень обрано хладон-134а. Фармако-технологічними та фізико-хімічними дослідженнями обґрунтовано кількість хладону-134а, яка забезпечує утворення піни з оптимальними показниками якості та видачу вмісту аерозольного балону.

Экспериментально установлено, что тип пропеллента влияет на антимикробную активность пен. На основании проведенных микробиологических исследований выбран хладон-134а. Фармако-технологическими и физико-химическими исследованиями обосновано количество хладона-134а, которое обеспечивает образование пены с оптимальными показателями качества и выдачу содержимого аэрозольного баллона.

It was experimentally revealed, that type of propellant influences on antimicrobial activity of suds. On the basis of the conducted microbiological researches the halocarbon-134a is selected. By technological, physical researches amount of halocarbon-134a, which provides formation of suds with the optimum indexes of quality and delivery of contents of aerosol bulb is grounded.

Аерозолі є готовою лікарською формою, у якій лікарська речовина перебуває під тиском пропеленту в аерозольному балоні та видається крізь клапанно-розподільчу систему [1].

Серед аерозольних препаратів особливе місце займають пінні аерозолі, які представляють собою лікарську форму, в якій препарат при виході із балона утворює піну. Піни є колоїдними системами, в яких пропелент розподіляється в рідкому дисперсійному середовищі (розчин, емульсія, суспензія та ін). Вони мають цілий ряд переваг перед іншими аерозольними системами, а саме: утворюють захисний бар'єр для інфікування ран, забезпечують швидкий терапевтичний ефект, не володіють «парниковим ефектом», вкривають великі за площею ранові поверхні, атравматичні при нанесені, герметичність упаковки гарантує стерильність на протязі усього терміну придатності, при обробці ураженої поверхні піною медичний персонал не піддається інгаляційній дії, піни містять значно меншу кількість пропеленту,зручні при використанні споживачем [1,2].

В технології аерозольних пін використовуються різні групи допоміжних речовин: піноутворювачі – поверхнево-активні речовини (ПАР) з гідрофільно-ліпофільним балансом (ГЛБ) 3-18 (за Гріфіном), високомолекулярні сполуки (ВМС), розчинники, пропеленти (евакуаційні гази). Одним із основних етапів при розробці складу пінних аерозолів є підбір виду та кількості пропелентів, які забезпечують піноутворення та повноту видачі вмісту з аерозольного балона. За агрегатним станом пропеленти розподіляються на зріджені та стиснуті. Перевагою зріджених газів є те, що тиск у балоні залишається постійним до тих пір, доки хоча б крапля зрідженого газу залишається в упаковці [1,3]. Утворення піни зумовлено тим, що зріджений газ при диспергуванні з емульсією (концентратом), завантаженим у аерозольний балон утворює двофазну систему (газ-рідина). При видачі концентрату з аерозольного балона крізь клапанно-розподільчу систему відбувається перехід зрідженого газу у газоподібний стан, в результаті чого дисперсна система спінюється з подальшим утворенням піни [1,4,5].

Відомо, що концентрація та тип пропеленту впливають на такі характеристики пінних препаратів, як: антимікробна активність діючої речовини, зовнішній вигляд, тип видачі, «термін життя», густина піни, відсоток виходу вмісту аерозольного балона та ін [4,5].

Виходячи з вищевикладеного **МЕТОЮ** даної **РОБОТИ** є обґрунтування типу та кількості пропеленту у складі пінного препарату з комплексом бактеріофагів.

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ

У якості концентрату було використано емульсію першого роду на основі гідрозолю комплексного бактеріофагу «Секстафаг», який містить бактеріофаги стафілококів, стрептококів, протея, клебсієл, синьогнійної та кишкової паличок. Концентрат було введено у скляні медичні аерозольні балони, вкриті шаром захисного покриття на основі полімеру, місткістю 30 мл, герметизовані клапанами безперервної дії.

У дослідженні було використано такі пропеленти:

Хладон 12 (виробник фірма «Du PONT», Франція) – дихлордифторметан CCI2F2, М.м. – 120,906. Температура закипання – 29,74 °С. За нормальних умов (t=20°С, Р=0,11 кПа) – не горючий, вибухобезпечний, малотоксичний газ.

Хладон 134а (виробник фірма «Du PONT», Франція) – тетрафторетан CF3CFH2, М.м. – 102,03. Температура закипання – 26,5°С. За нормальних умов (t=20°С, Р=0,11 кПа) – не горючий, вибухобезпечний, малотоксичний газ.

© О.А. Єрещенко, Л.С. Стрельников, Г.І. Кабачний, Є.І. Компанієць, 2010

Піну білого кольору для досліджень одержували з аерозольного балона, який містить емульсію О/В з комплексом бактеріофагів та пропелент. Перед використанням аерозольний балон енергійно струшували, забезпечуючи тим самим диспергування гідрофобного пропеленту у концентраті-емульсії О/В.

Тип видачі зовнішній вигляд піни перевіряли візуально. «Термін життя піни» визначали шляхом видавання певної кількості піни з балона на чисту білу смужку паперу й визначали час повного руйнування (або опадання) каркасу піни [5].

Визначення відносної густини піни проводили згідно з методикою ДФУ, вид. 1, С. 518-519. Аерозольні балони витримували при кімнатній температурі (25°С) протягом не менше 24 годин. Перед використанням балон струшували, піну поміщали до певного рівня у мірну ємкість і залишали на 20-30 секунд для вільного збільшення в об'ємі. Після того, як піна цілком розширилась, її залишки видаляли, а ємкість з піною зважували. Потім визначали масу води очищеної (води Р), яка вміщується в ту саму ємкість. Відносну густину обчислювали за формулою:

$$r_{відн.} = m/e \qquad (1)$$

де:

m – маса наважки випробування зразка піни, у грамах;

e – маса наважки об'єму води, у грамах.

Проводили три вимірювання. Жодне значення не повинно відхилятися більш як на ±20% від середнього значення.

Відсоток виходу вмісту аерозольного балона визначали згідно з методикою ДФУ, вид. 2, С. 312. Вимірювання проводили не менше ніж на 4-х аерозольних балонах, які витримували при температурі 25 С до врівноваження внутрішнього тиску та зважували кожен окремо з точністю до 0,01 г. Вміст кожного балона видаляли шляхом періодичного натискання на клапан протягом 5 сек. з інтервалом 1 хв. між кожним натисканням, щоб запобігти значному охолодженню контейнера, до припинення виходу лікарського засобу, після чого кожний контейнер зважували знову. Відсоток виходу (X) визначали за формулою:

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100 \qquad (2)$$

де:

m_1 – маса контейнера перед вимірюванням, у грамах;

m_2 – маса контейнера після видалення вмісту, у грамах;

m_3 – маса вмісту, зазначеного на етикетці, у грамах.

Антимікробну активність піни з бактеріофагами визначали за методами Аппельмана та «колодязів». Попередньо піну руйнували за допомогою центрифуги лабораторної ОПМ-8 при 1500 об./хв. протягом 5 хвилин. Рідину, отриману після центрифугування, використовували при вивченні антимікробної активності.

Метод Аппельмана полягає у приготуванні десятикратних розведень та подальшому визначенні розведення, при якому відбувається лізис досліджуваної тест-культури. За активність брали останнє розведення, в якому ріст культури візуально не спостерігається [6]. Метод «колодязів» полягає у дифузії фагових часток крізь товщу м'ясо-пептонного агару, що викликає затримку росту тест-культури [7].

В якості тест-культур використовували штами: Staphylococcus aureus ATCC 25923, Streptococcus pneumoniae ATCC 49619, Proteus vulgaris ATCC 6896, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Klebsiella pneumoniae ТК 11В.

Результати експериментальних досліджень статистично оброблені за методиками вид. 1, ДФУ, п. 5.3. С.198.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Першим етапом наших досліджень стало обґрунтування типу пропеленту. Критерієм вибору стала антимікробна активність піни з бактеріофагами. Як контроль була використана вихідна субстанція – гідрозоль «Секстафаг», що містить комплекс бактеріофагів. Результати досліджень наведені у *табл.1 та табл. 2.*

Таблиця 1

Титр за методом Аппельмана

Тест-культура	Антимікробна активність за методом Аппельмана		
	Піна з хладоном 12*	Піна з хладоном 134а*	Гідрозоль «Секстафаг» (контроль)
Staphylococcus aureus	$10^{-(4,6\pm0,4)}$	$10^{-(5,2\pm0,3)}$	$10^{-(5,3\pm0,4)}$
Streptococcus pneumoniae	$10^{-(4,3\pm0,4)}$	$10^{-(5,0\pm0,5)}$	$10^{-(5,2\pm0,3)}$
Proteus vulgaris	$10^{-(4,3\pm0,4)}$	$10^{-(5,0\pm0,5)}$	$10^{-(5,2\pm0,3)}$
Escherichia coli	$10^{-(4,3\pm0,4)}$	$10^{-(4,7\pm0,4)}$	$10^{-(5,0\pm0,5)}$
Pseudomonas aeruginosa	$10^{-(4,7\pm0,3)}$	$10^{-(4,7\pm0,4)}$	$10^{-(4,8\pm0,3)}$
Klebsiella pneumoniae	$10^{-(3,3\pm0,4)}$	$10^{-(4,0\pm0,5)}$	$10^{-(4,7\pm0,4)}$

Примітки: 1. n = 6; P=95; 2. M±m – довірчий інтервал;
3. * – вміст пропеленту в аерозольному балоні – 20 %.

Таблиця 2

Специфічна активність за методом «колодязів»

Тест-культура	Зони затримки росту тест-культури,мм		
	Піна з хладоном 12*	Піна з хладоном 134а*	Гідрозоль «Секстафаг» (контроль)
Staphylococcus aureus	16±0,5	17,7±0,6	19,8±0,6
Streptococcus pneumoniae	14,8±0,5	17,2±0,6	18,8±0,6
Proteus vulgaris	13,8±0,5	16,7±0,6	17,8±0,6
Escherichia coli	13,3±0,6	16±0,7	17±0,7
Pseudomonas aeruginosa	11,7±0,4	15±0,5	16±0,6
Klebsiella pneumoniae	11,7±0,7	14±0,5	15,7±0,4

Примітки: 1. n = 6; P=95; 2. M±m – довірчий інтервал;
3. * – вміст пропеленту в аерозольному балоні – 20 %.

Дані експериментальних досліджень свідчать, що піни, отримані з використанням хладонів різного типу відрізняються за антимікробною активністю. Так, наприклад, зразки пін, утворені за допомогою хладону-12 виявили

© О.А. Єрещенко, Л.С. Стрельников, Г.І. Кабачний, Є.І. Компанієць, 2010

меншу антимікробну активність у порівнянні з контролем та піною, утвореною за допомогою хладону-134а. Зразки піни з хладоном-134а практично не поступалися активності, яка виміряна за допомогою обох методик, контролю – гідрозолю «Секстафаг».

Таким чином, на підставі проведених мікробіологічних досліджень, у якості пропеленту нами був обраний хладон-134а.

Наступним етапом наших досліджень став підбір оптимальної кількості обраного пропеленту. Для цього були виготовлені зразки аерозолів з різною кількістю хладону-134а: від 1 г до 12 г, з інтервалом у 1 г.

Першим етапом вибору оптимальної кількості пропеленту стало дослідження його впливу на споживчі характеристики піни. Відомо, що в залежності від відсоткового вмісту пропеленту піни при видачі з аерозольного балона можуть мати різний тип видачі, вони або розбризкуються, або видаляються плавно. Кількість пропеленту також впливає на зовнішній вигляд піни, яка може бути з гладкою, блискучою або матовою поверхнею, зморшкувата, з воронками, пузирчаста, тістоподібна та ін. [5]. Результати вивчення впливу кількості хладону-134а на споживчі характеристики піни наведені у *табл. 3.*

Проведені дослідження свідчать, що кількість пропеленту впливає на усі показники якості піни. Піни, що утворені зразками із вмістом хладону-134а у кількості від 1 г до 3 г мають в'ялий, практично текучий тип видачі, швидко руйнуються та мають дрібноніздрювату матову поверхню. При збільшені вмісту хладону-134а від 7 до 12 г, піна має різкий та шумний тип видачі, крупноніздрювату, зморшкувату поверхню, що не відповідає споживчим характеристикам та вимогам, що пред'являються до якості пінних препаратів. У зразках аерозолів з вмістом хладону-134а у кількості від 4 г до 6 г піна була кремоподібної консистенції з гладкою блискучою поверхнею та плавним типом видачі.

Наступним етапом з обґрунтування кількості вмісту хладону-134а стало дослідження залежності відносної густини піни від кількісного вмісту пропеленту. Дані, наведені у *табл. 3* свідчать про те, що при збільшенні вмісту про-

Таблиця 3

Споживчі характеристики пін у залежності від кількості пропеленту (хладону-134а)

№ з/п	Концентрація хладону-134а, г	Тип видачі	Зовнішній вигляд піни	«Термін життя піни», хв	Відносна густина ρ, (відносно води Р)	Відсоток видачі Х, %
1	1,0	в'ялий, текучий	біла, з матовою поверхнею, дрібноніздрювата, швидко руйнується	менше 90	0,2731±0,004	20,98±0,78
2	2,0	в'ялий, текучий	біла, з матовою поверхнею, дрібноніздрювата, швидко руйнується	менше 90	0,2591±0,004	24,94±0,77
3	3,0	в'ялий	біла, з блискучою поверхнею, дрібноніздрювата	менше 90	0,2525±0,003	80,70±1,67
4	4,0	плавний	біла, з блискучою поверхнею, дрібноніздрювата	більше 180	0,2442±0,001	85,48±0,83
5	5,0	плавний	біла, дрібноніздрювата, кремоподібної консистенції з гладкою блискучою поверхнею	більше 180	0,2403±0,003	95,31±1,47
6	6,0	слабо різкий	біла, дрібноніздрювата, кремоподібної консистенції з гладкою блискучою поверхнею	більше 180	0,2279±0,003	92,87±0,85
7	7,0	різкий	біла, дрібноніздрювата з гладкою блискучою поверхнею	більше 180	0,2094±0,003	90,46±1,18
8	8,0	різкий	біла, крупноніздрювата, з гладкою поверхнею	більше 240	0,1821±0,001	88,18±1,04
9	9,0	різкий	біла, крупноніздрювата, з гладкою поверхнею	більше 240	0,197±0,002	87,32±1,35
10	10,0	шумний, переривчастий	біла, крупноніздрювата, зморшкувата, з гладкою поверхнею	більше 240	0,2029±0,001	85,77±1,35
11	12,0	шумний, переривчастий	біла, крупноніздрювата, зморшкувата, з гладкою поверхнею	більше 240	0,2127±0,004	85,83±0,63

Примітки: 1. n = 6; P=95; 2. M±m – довірчий інтервал.

© О.А. Єрещенко, Л.С. Стрельников, Г.І. Кабачний, Є.І. Компанієць, 2010

пеленту відносна густина піни поступово зменшується. Це пояснюється зростанням відсотка газоподібної фази в піні. Збільшення кількості вмісту хладону-134а призводить також до збільшення «терміну життя піни».

Одним з основних показників, що пред'являються ДФУ до засобів, що знаходяться під тиском, є відсоток виходу вмісту аерозольного балона. Для препаратів, що знаходяться під тиском, є характерною прямо пропорційна залежність виходу вмісту аерозольного балона від кількості пропеленту. Нами було досліджено вплив кількісного вмісту пропеленту на відсоток видачі. Результати досліджень подано в табл. 3. У зразках пінних аерозолів з вмістом хладону-134а 5 г спостерігався найбільший відсоток видачі піни з балона – 95,3 %. Збільшення концентрації хладону призводило до більш різкого типу видачі вмісту балона, а ступінь випорожнення при цьому не збільшувалась.

Таким чином, аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що найбільш оптимальний вміст пропеленту – хладон-134а в аерозольному препараті складає 5 г, оскільки саме ця кількість забезпечує найвищий відсоток виходу вмісту аерозольного балона та дозволяє отримати піну з плавним типом видачі, з середньою відносною густиною у порівнянні з іншими зразками та білою, кремоподібною консистенцією.

ВИСНОВКИ

1. На підставі вивчення впливу пропелентів (хладон-12, хладон-134а) на антимікробну активність емульсії О/В з комплексом бактеріофагів, обґрунтовано вибір типу пропеленту – хладон 134а.

2. Експериментально обґрунтована кількість хладону-134а у складі аерозольного препарату. Встановлено, що вміст хладону-134а – 5 г, забезпечує утворення піни з оптимальними властивостями, які відповідають якісному покриттю ранової поверхні та найбільшому виходу вмісту аерозольного балона.

ЛІТЕРАТУРА

1. Технология лекарственных аэрозольных форм/*Г. С. Башура, Ю. А. Кошелев, А. А. Яремчук и др.*— Бийск: Алтайвитамины, 1997.— 352 с.
2. *Батрак О.А.* Розробка та дослідження пінного аерозольного препарату для лікування променевих уражень, термічних та хімічних опіків: дис. кандидата фарм. наук: 15.00.01 / *Батрак Олена Анатоліївна.* – Х., 1999. – 135.
3. *Андрєєва І.В.* Створення аерозольного плівкоутворюючого лікарського препарату з фенольним гідрофобним препаратом прополісу для використання у медичній радіології: дис. кандидата фарм. наук : 15.00.01 / *Андрєєва Інна Вікторівна.* – Х., 2003. – 133 с.
4. Технология и стандартизация лекарств. Сборник научных трудов. – ООО «РИРЕГ», 1996. – 784 с.
5. Фармацевтические аэрозоли / *Башура Г.С., Неугодов П.П., Хаджай Я.И., Теллерман Л.С.* – М.: «Медицина», 1978. – 272 с.
6. *Кондратьева К.Н.* Бактериофаг (конспект). – Чебоксары, 1977. – 49 с.
7. *Адамс М.* Бактериофаги / *Адамс М.* – М.: Из-во Иностр.лит., 1961. – 397 с.

Відомості про авторів:
Єрещенко Оксана Антонівна, аспірант кафедри біотехнології НфаУ з відривом від виробництва.
Стрельников Леонід Семенович, доктор фармацевтичних наук, професор , завідуючий кафедрою біотехнології НФаУ.
Кабачний Геннадій Іванович, кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри біотехнології.
Компанієць Євген Іванович, науковий співробітник ДП ДНЦЛЗ.
Адреса для листування: м. Харків, вул. Астрономічна, б. 33, тел. служб: 720-62-14.