

І.І. Бердей, О.І. Павх, Н.І. Волянська, О.В. Покришко, Л.В. Соколова, О.М. Барна

Вивчення мікробіологічної чистоти деяких гелевих основ і рецептур з таурином

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Ключові слова: мікробіологічна чистота, гелеві основи, офтальмологічні препарати, таурин.

Ключевые слова: микробиологическая чистота, гелевые основы, офтальмологические препараты, таурин.

Key words: microbiological purity, gel basics, ophthalmic drugs, taurine.

Здійснено мікробіологічні дослідження деяких гелевих основ і рецептур гелів з таурином і консервантами – метилпарабеном і сорбіновою кислотою. Встановлено, що основи карбополу й гідроксиетилцелюлози, а також зразки з таурином і консервантом сорбіновою кислотою відповідають вимогам ДФ України щодо стерильності.

Проведены микробиологические исследования некоторых гелевых основ и рецептур гелей с таурином и консервантами – метилпарабеном и сорбиновой кислотой. Установлено, что основы карбопола и гидроксиэтилцеллюлозы, а также образцы с таурином и консервантом сорбиновой кислотой соответствуют требованиям ДФ Украины относительно стерильности.

Microbiological investigations of some gel bases and prescriptions of gels with taurine and different preservatives were conducted. It was established, that the gel bases of carbopol and hydroxyethyl cellulose, as well as prescriptions with taurine and sorbic acid, as preservative corresponds the requirements of Ukrainian pharmacopeia in relation to sterility.

При розробці лікарських препаратів не останню роль відіграє вибір лікарської форми, оскільки від неї залежатиме тривалість і повнота терапевтичного ефекту. Як відомо, м'які засоби мають ряд позитивних переваг перед іншими формами, оскільки характеризуються пролонгованою дією, зручні у використанні, дозволяють вводити різноманітні лікарські речовини, є досить стабільними при зберіганні. Ці переваги забезпечуються, перш за все, мажевою основою. Саме ці вимоги якнайкраще відповідають розробці нових офтальмологічних препаратів, недостатність яких відзначають на вітчизняному фармацевтичному ринку. [1,7]

Як відомо, з кожним роком показники якості лікарських препаратів невпинно зростають. Висуваються вимоги безпечності, не токсичності, високої біодоступності, стабільності тощо. Важливу роль відіграє мікробіологічна чистота засобів, що забезпечуватиме не лише якісне збереження препарату, але й запобігатиме впливу токсичних продуктів метаболізму мікроорганізмів. Цей показник є особливо важливим для парентеральних і офтальмологічних засобів, для яких висувається вимога стерильності [4,6,7].

Тому при розробці нових офтальмологічних засобів на гелевих основах особливу увагу приділяють вивченню питання стерильності. Контроль мікробіологічної чистоти, відповідно до вимог Державної Фармакопеї, є обов'язковим для очних лікарських засобів. Тому при розробці складу препарату важливим етапом було визначення оптимального консерванту і гелеутворювача, що забезпечували б стерильність засобу [2].

Мета роботи

Визначення мікробіологічної чистоти зразків свіжовиготовлених гелевих основ без консервантів, готових гелів з таурином і різними консервантами, а також зразків гелів з таурином після їх зберігання протягом 6 місяців.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження були 6 свіжовиготовлених зразків і 4 зразки, що зберігали протягом 6 місяців. До першої групи належать рецептури гелевих основ і гелів з таурином, до яких додавали консерванти (метилпарабен, сорбінова кислота). До другої групи належали гелі з таурином на різних гелевих основах з консервантом і без, які були закладені на зберігання в алюмінієвих тубах в холодильнику за температури від 2°C до 8°C. Склади модельних прописів наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Рецептури гелевих основ і мазей з таурином

Компоненти	Рецептури									
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9	№10
	Компоненти, мас %									
Таурин	–	–	1,0	1,0	1,0	1,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Гідроксиетил целюлоза	3,0	–	3,0	3,0	–	–	–	–	3,0	3,0
Карбопол	–	1,0	–	–	1,0	1,0	1,0	1,0	–	–
Метилпарабен	–	–	0,1	–	0,1	–	–	–	–	–
Сорбінова кислота	–	–	–	0,2	–	0,2	–	0,2	–	0,2
Вода	решта	решта	решта	решта	решта	решта	решта	решта	решта	решта

Примітка: 1–6 – свіжовиготовлені зразки, 7–10 – після 6 місяців зберігання.

Державна Фармакопея України, розділ 5.1.4., встановила певні категорії препаратів, для яких визначені кількісні нормативи, що характеризують рівень мікробної контамінації ЛП. Перша категорія – препарати, до яких висуваються вимоги стерильності відповідно до загальних статей на лікарські препарати (парентеральні, офтальмологічні; для введення у порожнини тіла, де в нормальному стані відсутні мікроорганізми) та інші, марковані як стерильні, мають бути стерильними. Оскільки планується розробка засобу для використання в офтальмологічній практиці, досліджуваний препарат має витримувати випробування на стерильність згідно вимог до ДФУ розділ 2.6.1 [2].

Мікробіологічну чистоту зразків визначали методом прямого посіву [3,5]. В асептичних умовах у колбу об'ємом 250 мл, що містила скляні намистинки, вносили 0,1 г досліджуваного зразка і 100 мл 1/15 М фосфатного буферного розчину з рН 6,8–7. Вміст колби підігрівали до 40°C, струшували до отримання однорідного вмісту, після чого вносили в колбу з тіогліколевим середовищем для визначення бактеріального забруднення і в колбу з середовищем Сабуро для виявлення наявності грибів. Посіви інкубували 14 днів в тіогліколовому середовищі при температурі 37°C, в середовищі Сабуро – при 24°C.

Наявність росту мікроорганізмів в живильних середовищах оцінювали візуально за помутнінням чи утворенням осаду. Далі для підтвердження наявності чи відсутності мікроорганізмів проводили посів на щільні середовища: цукровий агар і середовище Ендо – для визначення бактерій родини *Enterobacteriaceae*, жовтково-сольовий агар – для виявлення представників роду *Staphylococcus*. Після інкубування середовищ у термостаті протягом 24 годин колонії, що виростили на середовищах, ідентифікували за визначником Берджі [3,5].

Результати та їх обговорення

При оцінці результатів з метою уникнення неточностей, можливих у зв'язку з виявленням антимікробної активності зразків з консервантом, експериментально встановили, що дану лікарську форму в розведенні 1:10 можна охарактеризувати як таку, що не проявляє антимікробної дії.

Наступний етап дослідження – встановлення мікробіологічної чистоти самих основ на обраних гелеутворювачах. В асептичних умовах виготовлено прописи №1 і №2; для цього використовували попередньо простерилізовані субстанції та обладнання. Виготовлені основи досліджували згідно методик ДФУ. Встановили, що після культивування протягом 14 діб в тіогліколовому середовищі та в середовищі Сабуро росту мікроорганізмів не виявлено. Такий результат підтверджено посівом на щільні середовища.

Отже, ці гелеутворювачі можна використовувати для подальших досліджень зі створення очних лікарських засобів, вони не будуть контамінувати препарат.

Наступним кроком було визначення оптимального консерванту в складі очного гелю, який забезпечував би стабільний позитивний результат. Для цього виготовлено

зразки гелів №3, 4, 5 і 6 на двох гелеутворювачах з таурином і консервантами метилпарабеном і сорбіновою кислотою (табл. 1). Концентрацію консервантів обирали спираючись на їх характеристики та дані наукової літератури. Мікробіологічну чистоту зразків визначали методом прямого посіву в тіогліколеве середовище та в середовище Сабуро. Отримано наступні результати: зразки №4 і 6 були стерильні, а в зразках №3 і 5 виявлено ріст мікроорганізмів на тіогліколовому середовищі. Для підтвердження отриманих даних проводили посів на щільні середовища. На цукровому агарі та на середовищі Ендо спостерігали ріст мікроорганізмів з 3 і 5 зразків, що свідчить про наявність *E. coli*. На середовищі Сабуро росту грибів не було в жодному зі зразків. Отримані результати дають право стверджувати, що обраний консервант – метилпарабен, що входив до складу обох контамінованих прописів, – є неефективним для застосування у виробництві препаратів, що вимагають стерильності.

Завершальний етап досліджень – порівняння мікробіологічної чистоти свіжовиготовлених модельних прописів і зразків, що містять ефективний консервант (сорбінову кислоту) та без нього, що зберігали протягом 3 місяців. Дослідження проводило аналогічно до попередніх зі зразками, склад яких наведено в таблиці 1.

Встановили, що в зразках №3, 5 і 9 після культивування виявлено ріст мікроорганізмів, що підтверджено подальшими посівами на щільні середовища, які показали, що дані зразки давали ріст мікроорганізмів на цукровому агарі. На середовищі Ендо спостерігали утворення колоній бактерій зі зразками №3 і 5; на жовтково-сольовому агарі – з №9. Виявлено, що 9 зразок забруднений *S. epidermidis*; №3 і 5 – *E. coli*.

Висновки

За результатами мікробіологічних досліджень встановлено, що зразки №1, 2, 4, 6, 7, 8 і 10, зокрема гелеві основи та гелі з таурином і консервантом сорбіновою кислотою відповідають вимогам Державної Фармакопеї України щодо мікробіологічної чистоти препаратів категорій 1, тобто витримують випробування на стерильність. Зразки №3, 5 і 9, що містять як консервант метилпарабен, не відповідають цим вимогам. Виділені культури *S. epidermidis* та *E. coli* – представники нормальної мікрофлори людини. Отже, забруднення даних зразків пов'язане з додаванням неефективного консерванту.

Опираючись на отримані дані мікробіологічних досліджень встановлено, що обрані гелеві основи можна використовувати в офтальмологічній практиці. Підтверджено, що гелі на основі карбополу й гідроксиетилцелюлози з таурином і консервантом сорбіновою кислотою витримували випробування на стерильність як свіжовиготовлені, так і після 3 місяців зберігання. Отже, враховуючи результати проведених досліджень, можна рекомендувати використовувати у виробництві очних лікарських засобів карбопол і гідроксиетилцелюлозу як структуроутворювачі, а сорбінову кислоту – як консервант.

Список літератури

1. *Бойко М.О.* Оцінка мікробіологічної чистоти м'якої лікарської форми фенсукциналу / М.О. Бойко, О.П. Стрілець, С.П. Кустова // Запорозький мед. журн. – 2009. – Т. 11, №3. – С. 74–77.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науковий-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 526 с.
3. Мікробіологія: Учебник для студентів фармацевтичних ВУЗів і фармацевтичних факультетів медичинських інститутів / Дикий І.Л., Холуп'як І.Ю., Шевелева Н.Е., Стегний М.Ю. – 2-е издане.-К.: ИД «Професіонал», 2004. – 624 с.
4. *Зубченко Т.М.* Дослідження з мікробіологічної чистоти лікарських препаратів на основі розторопші плямистої / Т.М. Зубченко, О.І. Тихонов // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2010. – Вип. XXIII, №4 – С. 27–30.
5. Мікробіологія: Руководство к лабораторным занятиям: Учебное пособие для студентов фармацевтических ВУЗів и фармацевтических факультетов медицинских институтов / И.Л. Дикий, И.И. Сидорчук, И.Ю. Холуп'як и др. – К.: ИД «Професіонал», 2004. – 594 с.
6. *Половко Н.П.* Дослідження мікробіологічної чистоти гелю з клотримазолом / Н.П. Половко, О.Г. Башура, О.П. Стрілець // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2010. – Вип. XXIII, № 1 – С. 73–75.
7. Стан та напрямки створення офтальмологічних лікарських засобів в Україні / Андрукова Л.М., Фетісова О.Г., Сіденко Л.М. / В збірнику матеріалів 2 науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології». – 17–18 листопада 2011 р. – Харків. – С. 15–16.

Відомості про авторів:

Бердей І.І., асистент каф. фармацевтичних дисциплін ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Павх О.І., к. фарм. н., доцент каф. фармацевтичних дисциплін ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Волянська Н.І., студентка 5 курсу фармацевтичного факультету ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Покришко О.В., к. мед. н., доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Соколова Л.В., к. фарм. н., доцент, декан фармацевтичного факультету ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Барна О.М., к. фарм. н., асистент каф. фармацевтичних дисциплін, ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Адреса для листування:

Бердей Ігор Іванович. 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, каф. фармацевтичних дисциплін ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Тел.: (0352) 24 53 80.

Надійшла в редакцію 16.01.2012 р.