УДК 615.014.453:615.454

РАДІАЦІЙНА ДЕКОНТАМІНАЦІЯ ЖЕЛАТИНУ В ТЕХНОЛОГІЇ М'ЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ

Д.В. Дем'яненко, І.А. Єгоров, В.Г. Дем'яненко

Національна фармацевтична академія України

Одним з показників, що характеризують якість готових лікарських форм, є їх мікробіологічна чистота.

Аналіз літератури і проведені нами дослідження [3–6] свідчать про те, що нестерильні лікарські засоби нерідко бувають контаміновані різноманітними за кількісним і видовим складом мікроорганізмами.

Проблеми мікробного забруднення м'яких лікарських форм (МЛФ) займають особливе місце. Цьому сприяє наявність в їх складі вуглеводів, жирів, білків, амінокислот, які дозволяють мікроорганізмам відновлювати свою активність. Згідно з літературними даними, у супозиторіях промислового виробництва поряд з непатогенними видами були виявлені Bac. subtilis, Staph. aureus, Ps. aeruginosa, Staph. albus, γ-Strep-tococcus, цвілеві гриби, у вагінальних глобулах — Staph. haemoliticus, Bac. sublilis [1, 4].

Особливе значення для підвищення якості м'яких лікарських форм має мікробіологічна чистота багатотоннажної сировини і допоміжних речовин — желатину, крохмалю, тальку, глюкози, какаової олії і т.д. Указані речовини характеризуються високою контамінацією бактеріями і грибами, а в деяких випадках і мікроорганізмами род. Enterobacteriaceae [3, 6].

Як показали дослідження [7,9,10], мікрофлора, що засіває ряд лікарських засобів, має значну радіаційну чутливість, що в принципі відкриває можливість використання порівняно невеликих доз іонізуючих випромінювань для зниження мікробного забруднення сировини і готових препаратів. У досить типових ситуаціях для досягнення необхідного рівня мікробної чистоти досить піддати належній обробці одну-дві найбільш контаміновані мікроорганізмами речовини.

У порівнянні з традиційними методами стерилізації радіаційна обробка має ряд найважливіших технічних переваг [5]:

— гарантія необхідного рівня мікробіологічної чистоти лікарських форм в їх товарній упаковці при збереженні всіх основних якісних і кількісних показників;

— універсальність обладнання для радіаційної стерилізації, яке може бути використане для обробки субстанцій, скляних і полімерних контейнерів, допоміжних матеріалів і готових лікарських форм, що випускаються промисловістю;

— можливість проведення радіаційної обробки препаратів у максимально автоматизованому процесі при цілодобовій роботі із використанням конвейєрно-потокової системи подачі і вивантаження об'єктів;

— можливість скасування або зведення до мінімуму рутинних мікробіологічних методів аналізу, замінивши їх об'єктивним дозиметричним контролем, що значно скоротить ручну працю і виключить втрати дорогих препаратів, які відбираються від кожної серії продукції.

Метою нашої роботи було вивчення впливу різних доз іонізуючого випромінювання на фізико-хімічні властивості і мікробіологічні показники медичного желатину.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження слугував желатин медичний типу А, що являє собою очищений білок з молекулярною масою $0,4 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^5$, одержаний частковим кислотним гідролізом колагену.

У наших дослідженнях опромінення зразків желатину здійснювали на лінійному прискорювачі електронів ЛУЕ-300 за таких умов: енергія пучка E_o = 10 МеВ; середній струм пучка $I_{сер}$ = 18 мка; щільність потоку в максимумі кривої розподілу $\varphi_0 = 5,7 \cdot 10^{10}$ см$^{-2} \cdot$ с$^{-1}$; середньоквадратичний радіус пучка r = 17,7см, діаметр об'єктів, що опромінювались, $d_o \leq 20$ см; ступінь нерівномірності опромінення $\omega = \pm 17\%$; частота імпульсів ω = 50 Гц; потужність дози 19,2 Гр/с.

Розрахункові дози опромінення становили (у дужках указані значення, визначені за допомогою плівкових дозиметрів Со ПД(Ф)-5/150): D= 5(4); 10(8); 15(14); 20(17); 30(30) кГр.

Зразки препаратів клали в поліетиленові пакетики так, щоб сформувався шар речовини завтовшки d=10,0±0,1мм. Указану величину контролювали шляхом вимірювання штангенциркулем не менш як у п'яти місцях. Пакетики запаювали. Потім проводили опромінення до заданої поглинутої дози, яку вимірювали плівковим дозиметром Со ПД(Ф)-5/150.

Опромінені і неопромінені зразки досліджували на мікробіологічну чистоту згідно з ДФУ [2].

З метою вивчення впливу різних доз іонізуючої радіації на фізико-хімічні властивості медичного желатину нами були досліджені зовнішній вигляд, pH, воло-

гість, гелеутворююча властивість зразків, опромінених різними дозами, було визначено вміст перекисів і діоксиду сірки як можливих продуктів радіолізу, а також проведені реакції ідентифікації відповідно до вимог ДФУ й ЕР [8] .

Розчиняли 1 г зразка при 55°С у воді, вільній від двоокису вуглецю, доводили водою до 100 мл (розчин S).

Забарвлення розчину S порівнювали з еталонним розчином Y_4, опалесценцію — з еталонною суспензією IV.

pH розчину S вимірювали потенціометрично на іономірі універсальному ЕВ-74.

Вологість желатину визначали висушуванням 1,000 г зразка в сушильній шафі при 100 - 105°С до постійної маси.

Ідентичність встановлювали за такими реакціями.

А. До 2 мл розчину S додавали 0,05 мл розчину міді сульфату. Перемішували і додавали 0,5 мл розведеного розчину гідроксиду натрію. Спостерігали забарвлення розчину.

В. У пробірці до 0,5 г зразка додавали 10 мл води. Через 10 хв. нагрівали при 60°С протягом 15 хв., потім витримували пробірку у вертикальному положенні при 0°С 6 ч.

Вміст діоксиду сірки визначали за такою методикою.

150 мл води очищеної поміщали в трьохгорлу круглодонну колбу зі зворотним холодильником і пробіркою-приймачем, протягом 15 хв через систему пропускали двоокис вуглецю зі швидкістю 100 мл / хв. 10 мл розведеного розчину пероксиду водню, нейтралізованого за бромфеноловим синім (0,1 % розчин у 20°-му спирті), поміщали в пробірку-приймач.

25,0 г досліджуваного зразка вводили через отвір у колбу, вставляли в нього лійку, додавали 80 мл розведеної соляної кислоти і кип'ятили 1 год. Потім припиняли нагрівання і подання двоокису вуглецю й охолодженої води в холодильник. Вміст пробірки кількісно переносили до широкогорлої конічної колби на 200 мл. Останню нагрівали на водяній бані протягом 15 хв, після чого охолоджували на повітрі . У колбу додавали 0,1 мл 0,1%-му розчину бромфенолового синього в 20°-му спирті і титрували розчин 0,1 М гідроксидом натрію до переходу забарвлення від жовтого до фіолетово-синього.

Вміст двоокису сірки в мільйонних частках (ppm) обчислювали за співвідношенням: X=128 × a, де a — число мілілітрів 0,1М гідроксиду натрію, що затрачено на титрування.

Для визначення кількості перекисів 1,0 г зразка розчиняли в 10 мл води при нагріванні і додавали 2 мл розчину п'ятиокису ванадію в сірчаній кислоті. Забарвлення розчину порівнювали зі стандартом, приготовленим аналогічно розчиненням 1 мл розчину пероксиду водню (0,1 г/л H_2O_2) у 9 мл води (0,01%-ї H_2O_2).

Міцність гелю, утвореного желатином, вимірювали на гелеметрі відповідно до методики, описаної в ЕР.

7,5 г желатину поміщали у флакон із внутрішнім діаметром 59 ± 1 мм і висотою 85 мм. Додавали 105 мл води, накривали флакон годинниковим склом і залишали на 3 год, після чого нагрівали, перемішуючи скляною паличкою, на водяній бані при 65°С протягом 15 хв. Охолоджували при кімнатній температурі 15 хв, закривали флакон гумовою пробкою і залишали його в строго вертикальному положенні в термостаті при 10,0±0.1°С на 16–18 ч.

Потім негайно проводили визначення на гелеметрі. Поршень діаметром 12,7 мм навантажували зі швидкістю 40 г/с доти, доки він не занурювався в гель на глибину 4±0,1 мм. Визначали сумарну масу вантажу з точністю ± 0,5 г. Указана величина характеризувала міцність гелю.

Результати та їх обговорення

Мікробіологічні дослідження опроміненого желатину в порівнянні з контрольними зразками показали, що доза опромінення 10 кГр дозволяє знизити загальну мікробну контамінацію желатину приблизно на 2 порядки, що дозволяє використовувати його в технології нестерильних м'яких лікарських форм. Опромінення дозою 30 кГр дає абсолютний стерилізуючий ефект. Радіаційна обробка желатину в дозі 5 кГр цілком усуває санітарно-показові мікроорганізми род. Enterobacteriaceae.

Результати мікробіологічного аналізу зразків желатину, опроміненого різними дозами, представлені в табл.1.

Таблиця 1

Мікробіологічна контамінація желатину залежно від дози опромінення

Мікробіологічні показники	Кількість мікроорганизмів, КОЕ / г					
	Доза опромінення, кГр					
	0	5	10	15	20	30
Загальне число бактерій	$1,2x10^4$	$7,6x10^2$	$1,5x10^2$	9,0x10	0	0
Загальне число грибів	$8,7x10^2$	$1,1x10^2$	6,2x10	7	0	0
Кількість зразків, засіяних мікроорганізмами род. Enterobacteriaceae,%	13,3	0	0	0	0	0

Таблиця 2

Вплив опромінення на фізико-хімічні властивості желатину

Параметри	Доза, кГр					
	0	5	10	15	20	30
Зовнішній вигляд	+ *1/+ *2	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
pH	6,4	6,1	5,2	4,9	4,1	3,8
Ідентичність	+ *3 / + *4	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Вологість, %	12,7	12,4	12,0	11,4	11,2	11,0
Вміст перекисів	- *5	-	-	-	-	+ *
Вміст SO_2, ppm	72	88	103	129	154	181
Міцність гелю, г	236,5	221,0	207,0	194,5	175,0	157,5

*1 – забарвлення розчину S відповідає еталону Y_4
*2 - опалесценція розчину S відповідає еталону IV
*3 – позитивна реакція А на ідентичність (фіолетове забарвлення)
*4 - позитивна реакція В на ідентичність (гель не витікає із пробірки)
*5 - інтенсивність забарвлення випробуваного розчину слабкіша від еталону
* – інтенсивність забарвлення незначно перевищувала цей показник еталону.

Вивчення впливу опромінення на фізико-хімічні властивості медичного желатину показало, що зі збільшенням дози опромінення знижується pH його розчинів, підвищується вміст перекисів і SO_2, зменшується в'язкість розчинів і, отже, міцність гелів, однак ці зміни навіть при стерилізуючих дозах знаходяться в припустимих межах (табл.2).

ВИСНОВКИ

1. На основі проведених досліджень установлено, що опромінення медичного желатину прискореними електронами з енергією 10 МеВ у дозі 10 кГр забезпечує придатний для виробництва нестерильних МЛФ рівень мікробіологічної чистоти речовини.

2. Радіаційна обробка желатину в дозах понад 20 кГр дає чіткий стерилізуючий ефект, що дозволяє використовувати його у виробництві препаратів, які вимагають більш високої мікробіологічної чистоти.

3. Фізико-хімічні властивості желатину, опроміненого в дозах до 20 кГр, змінюються в межах, припустимих відповідною АНД.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бухарцева Е.В., Кивман Г.Я., Шуб Т.А. // Хим. фармац. журн.— 1995.— № 11.— Т. 29.— С. 61–64.*
2. *Державна фармакопея України / МОЗ України.— 1-ше вид.— Х., 2001.— 531 с.*
3. *Кобзарь А.И., Гризодуб А.И., Деркач Н.З., Скубко Т.П. // Фармаком.— 1995.— № 11/12.— С. 8–12.*
4. *Павлов Е.П., Тушов Э.Г., Самойленко И.И. и др. // Хим. фармац. журн.— 1992.— № 2.— С. 76–78.*
5. *Почапинский В.И., Трофимов В.И.//Хим.фармац.журн.— 1992.— № 9–10.— Т.26.— С. 116–121.*
6. *Скубко Т.П. // Технология и стандартизация лекарств: Тр. ГНЦЛС.— Х.: РИРЕГ, 1996.— С. 520–536.*
7. *Cignitti M. // Boll. Chim. Farm.— 1992.— Vol.131, № 2.— P.71–73.*
8. *European Pharmacopoeia.— 3d ed.— Strasbourg, 1997.— 1777 p.*
9. *Gopal N.G., Patel K.M., Gharma G. // Radiat. Phys. Chem.— 1988.— Vol. 32, № 4.— P. 619–622.*
10. *Tilquin B.//J.Pharm.Belg.— 1991.— Vol. 46, № 6.— P.396–398.*