

Disciplina de tehnică farmaceutică a I.M.F. Tirgu Mureş
(cond.: conf. dr. L. Adam, doctor farmacist), Laboratorul central de bacteriologie,
micologie, parazitologie al Policlinicii nr. II din Tirgu Mureş
(cond.: conf. dr. I. Steinmetz, doctor în medicină)

CONTRIBUȚII LA PROBLEMA CONSERVĂRII EMULSIILOR DE TIP ULEI ÎN APĂ

Zamfira Csath-Stinzel, G. Horváth

Conservarea sistemelor emulsionate este o cerință de mare importanță pentru menținerea acțiunii și evitarea efectelor nocive pricinuite de administrarea unui medicament contaminat cu agenți patogeni.

La preparatele lichide și semisolide cu conținut de apă, se pune problema conservării antimicrobiene cu atât mai mult, cu cât trebuie să se aibă în vedere că ele prezintă un mediu prielnic nu numai pentru supraviețuirea microorganismelor, dar și pentru proliferarea lor.

Bean (5) semnalează o serie de eșecuri în privința eficacității conservanților în emulsii, preparatele de tip U/A prezentând riscuri de infectare mai mari în timpul păstrării. După cercetările lui *Bolle* și *Mirmanoff* (8), în special, emulsiile cu emulgatori moderni neionici sint un bun substrat pentru infecția cu fungi. *Varma, Hall, Rising* (27) au pus în evidență importanța primordială a naturii emulgatorului neionic în activitatea conservanților.

Dificultatea conservării emulsiilor rezidă și în faptul că, în aceste sisteme, activitatea antimicrobiană și antifungică a substanțelor chimice este diferită față de o soluție apoasă. În complexitatea factorilor care influențează acest proces, majoritatea autorilor subliniază importanța coeficientului de repartiție al conservantului în faza hidrofilă-lipofilă (3, 6, 13, 16, 26).

Cercetările care s-au ocupat cu conservarea dispersiilor eterogene și-au îndreptat interesul spre cîteva substanțe, ca: derivații organo-mercurici, esterii acidului parahidroxibenzoic (26, 17, 22), acizii carbonici organici (acidul sorbic, acidul benzoic), (19, 23, 28).

Referitor la metodele de control pentru substanțele antimicrobiene, în general, se face o diferențiere după scopul pentru care au fost incorporate în forma farmaceutică. La urmărirea cedării unor preparate din forme farmaceutice, se preconizează aplicarea metodei de difuziune. În cazul testării eficacității conservanților în preparate multidoze, lucrările cele mai recente (1, 2, 9, 10, 14, 15, 26) atestă eficacitatea metodei bazate pe principiile descrise în 1958 de *Kliewe* și colab. (21). Metoda denumită „Test de conservare” constă în contaminarea artificială a preparatelor și urmărirea evoluției dezvoltării germenilor în timp, sub influența conservanților. Dintre metodele de evaluare, pe primul loc se situează metoda determinării numărului de colonii pe plăci Petri (1, 2, 9, 10), măsurarea puterii respiratorii a microorganismelor (1, 2, 7), precum și tehnici nefelometrice etc. (14, 15, 17, 25, 26).

Material și metodă

În emulsiile unor uleiuri vegetale (Ol. helianthi, Ol. ricini) și a unui ulei mineral (Ol. paraffini) în apă, preparate cu emulgator complex format din tenside neionice de tip Tween și Span — în cantitate și proporții optime determinate în cercetări anterioare (11, 12) — a fost testată eficacitatea unor conservanți mai des comandați de literatura de specialitate.

Formulele emulsiilor au fost următoarele:

Emulsio Ol. Helianthi 10⁰/₀ (HLB optim = 8,5)

Ol. Helianthi	10,0 g
Tween 80	1,10 g
Span 40	3,90 g
Aqua dest.	85,0 g

Emulsio Ol. Ricini 20⁰/₀ (HLB optim = 14,0)

Ol. Ricini	20,0 g
Tween 40	4,2 g
Span 60	0,8 g
Aqua dest.	75,0 g

Emulsio Ol. Paraffini 20⁰/₀ (HLB optim = 11,0)

Ol. Paraffini	20,0 g
Tween 80	2,6 g
Span 40	2,4 g
Aqua dest.	75,0 g

Emulsiile au fost preparate în condiții aseptice, cu componenți sterilizați, cu ajutorul unui agitator electric după metoda descrisă într-o lucrare anterioară (11).

Conservanții în concentrații uzuale s-au adăugat în faza apoasă a emulsiei, procedeu preconizat și de F. Hung. Ed. VI.

Conservanții cercetați au fost: Nipagin A 0,1%, Nipazol 0,05%, amestec de Nipagin A 0,07% + Nipazol 0,03%, Fenosept 0,002%, Thiomersal 0,005%, Ac. sorbic 0,10% și Ac. benzoic 0,10%.

Compararea eficacității conservanților s-a efectuat cu metoda contaminării artificiale și urmărirea dezvoltării microorganismelor în timp, prin determinarea numărului de colonii pe plăci Petri, după metoda enunțată anterior.

Cercetările au fost efectuate pe germeni decelabili în mod curent în forme farmaceutice: levuri (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*) și ciuperci filamentoase (*Penicillium album*). La alegerea levurilor test s-a ținut cont și de particularitățile lor de multiplicare: levuri blastosporate (*Candida albicans*) și arthrosporitate (*Geotrichum candidum*). După experiențele noastre (18) sușele de *Geotrichum* sînt foarte frecvente în materiile fecale (25,66%) și în spută (10,28%), specia care predomină fiind *Geotrichum candidum* (74%), ceea ce pledează pentru posibilitatea infectării formelor farmaceutice cu acești germeni.

Probele sterile cu și fără conservanți au fost infestate cu o suspensie titrată de spori (titrul: $\times 10^5$) în cantitate de 0,2 ml. 25 ml emulsie, suspensia de spori fiind realizată prin dispersarea acestora în soluție de clorură de sodiu izotonică.

Probele s-au însămințat pe mediu Sabouraud, fiind incubate 24 ore la 28°, numărîndu-se coloniile aparute atît imediat după infestare, cît și după anumite perioade de timp: 1 zi, 5 zile, 10 zile.

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute din media a 3 serii de determinări sînt prezentate în tabelele anexate (tabelul nr. 1, 2, 3).

Din cercetările întreprinse am obținut următoarele rezultate:

1. Comparînd cei 7 conservanți s-a constatat că nipaesterii sînt cei mai puțin eficace, cu toate că la ora actuală figurează în multe prescripții oficinale și specialități farmaceutice. Acțiunea lor conservantă necorespunzătoare, în special în preparatele conținînd substanțe auxiliare macromoleculare, este semnalată de tot mai multe articole recente de specialitate (17, 22, 25).

Tabelul nr. 1
Numărul coloniilor existente în preparatele testate

Emulsio Ol. Helianthi 10%	Candida albicans				Geotrichum candidum				Penicillium album			
	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile
Martor	300	300	325	350	180	210	290	310	35	45	75	800
Nipagin A 0,10%	250	240	230	200	205	190	110	90	30	100	600	x
Nipazol 0,05%	260	240	270	300	210	210	215	215	32	150	x	x
Nipagin A 0,07% + Nipazol 0,03%	265	250	210	200	195	195	200	210	40	200	x	x
Fenosept 0,002%	260	0	0	0	200	65	2	0	30	30	24	20
Thiomersal 0,005%	280	0	0	0	190	10	0	0	35	0	0	0
Ac. sorbic 0,10%	280	180	0	0	185	180	90	16	30	21	5	0
Ac. benzoic 0,10%	285	200	109	0	190	180	30	0	35	17	0	0

Legenda: x = colonii nenumarabile
0 = steril

Tabelul nr. 2
Numărul coloniilor existente în preparatele testate

Emulsio Ol. Ricini 20%	Candida albicans				Geotrichum candidum				Penicillium album			
	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile
Martor	210	210	220	240	180	180	170	155	60	85	140	150
Nipagin A 0,10%	210	190	50	12	240	240	120	85	60	100	160	210
Nipazol 0,05	260	145	110	43	140	160	210	300	80	95	150	210
Nipagin A 0,07% + Nipazol 0,03%	240	215	30	0	180	180	170	150	60	56	15	1
Fenosept 0,002%	200	0	0	0	140	130	70	5	70	0	0	0
Thiomersal 0,005%	190	0	0	0	160	0	0	0	80	0	0	0
Ac. sorbic 0,10%	180	90	0	0	180	80	0	0	70	58	25	4
Ac. benzoic 0,10%	215	170	30	16	180	175	160	140	60	65	92	120

Legenda: 0 = steril

Tabelul nr. 3
Numărul coloniilor existente în preparatele testate

Emulsio Ol. Paraffini 20%	Candida albicans				Geotrichum candidum				Penicillium album			
	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile	La in- festare	24 ore	5 zile	10 zile
Martor	200	200	180	155	215	215	200	160	50	65	40	30
Nipagin A 0,10%	225	220	140	95	215	210	170	160	58	55	53	6
Nipazol 0,05	230	220	130	70	210	200	115	75	60	50	28	0
Nipagin A 0,07% + Nipazol 0,03%	190	190	90	80	230	230	190	150	55	55	43	25
Fenosept 0,002%	220	0	0	0	210	0	0	0	60	0	0	0
Thiomersal 0,005%	220	0	0	0	215	0	0	0	65	0	0	0
Ac. sorbic 0,10%	225	210	190	160	180	130	0	0	60	50	10	0
Ac. benzoic 0,10%	220	180	30	1	210	200	48	6	66	65	34	20

Legenda: 0 = sterili

Acțiunea derivaților organomercurici este spectaculoasă, ei asigurând sterilitatea preparatului în câteva ore. Dar folosirea lor se face cu precauție în preparate administrate cutanat și este nedorită la preparatele pentru uz intern.

Acidul benzoic — conservant clasic — a dat rezultate destul de bune.

Acidul sorbic, preparat semnalat în literatura străină de specialitate ca singurul admis în conservarea alimentelor (23, 28) — datorită lipsei de toxicitate — s-a dovedit în majoritatea cazurilor foarte eficace, fiind al treilea în ordinea eficacității după derivații organomercurici amintiți. Calitățile conservante optime ale acidului sorbic, în comparație cu alte substanțe, au fost atestate și de Vogel (28), Barberot (1, 2), Ivanova (19) și alții.

2. Unele date bibliografice (4) au consemnat diferențe în conservabilitatea emulsiilor de uleiuri vegetale și minerale atribuite deosebirilor între coeficientul de repartiție al conservanților față de aceste uleiuri. Constatările noastre sînt similare: emulsiile de Ol. Helianthi și Ricini au după aceeași perioadă de timp un număr mai mare de germeni, decît emulsiile de Ol. Paraffini. În prezența uleiului mineral am observat o scădere ușoară a numărului de germeni chiar și în probele neconservate.

3. Comparînd sensibilitatea germenilor test la conservanții folosiți am constatat unele diferențe, în sensul unei acțiuni mai nete asupra probelor infestate cu Candida și Penicillium și mai puțin pronunțate la probele infestate cu Geotrichum.

Jensen și colab. (20) au pus în evidență lipază în echipamentul enzimatic al speciei Geotrichum candidum, care poate produce o descompunere enzimatică a uleiurilor grase. Se pare că acești produși sînt folosiți în metabolismul acesteia, ceea ce necesită o deosebită atenție în utilizarea acestor specii în probele test. În cercetările noastre am luat o sușă de Geotrichum candidum — izolată și identificată de noi — pentru a urmări reacția ei față de conservanți în prezența unor uleiuri vegetale. Observația conform căreia ele au fost mai rezistente față de substanțele testate, ne permite să presupunem că și în cazul cercetărilor noastre s-au petrecut fenomenele semnalate de Jensen.

În concluzie apreciem că pentru conservarea emulsiilor U/A, nipaesterii nu sînt suficient de eficienți, astfel noi preconizăm utilizarea acidului sorbic în concentrație de 0,1%.

Sosit la redacție: 1 iulie 1972.

Bibliografie

1. BARBEROT R., PINSON R., MIRIMANOFF A.: Pharm. Acta Helv. (1964), 39, 9, 559; 2. BARBEROT R., PINSON R., MIRIMANOFF A.: Pharm. Acta Helv. (1965), 40, 4, 229; 3. BEAN H. S., BECKETT A. H., CARLESS J. E.: Advances in Pharmaceutical Sciences (vol. I), Academic Press, London—New York, 1964; 4. BEAN H. S.: Austral. J. Pharm. (1965), 46, 543, S. 27; 5. BEAN H. S.: Ann. Pharm. Franc. (1967), 25, 4, 265; 6. BEAN H. S.: J. Pharm. Pharmacol. (1969), 21, Suppl. 172 S; 7. BEIGNOT-DEVALMONT M., CARRERE C., LAMBIN S.: Ann. Pharm. Franc. (1966), 24, 3, 167; 8. BOLLE A., MIRIMANOFF A.: J. Pharm. Pharmacol. (1950), 2, 685; 9. BÜHLMANN X.: Pharm. Acta Helv. (1971), 46, 7, 385; 10. BÜHLMANN X., GAY M., GUBLER H., HESS H., KABAY A., KNÜSEL F., SACKMANN W., SCHILLER I., URBAN S.: Pharm. Acta Helv. (1971), 46, 6, 321; 11. CSATH Z., NAGY M.: Eficiența unor metode de control în verificarea calității emulsiilor, Comunicată la U.S.S.M. Filiala Mureș, la 24 II 1972; 12. CSATH Z., NAGY M.: Utilizarea tensidelor la prepararea emulsiilor, Nota I și II, Comunicată la Simpozionul „Progrese în tehnologia de preparare a medicamentului” Tîrgu Mureș, 29 IV 1972; 13. ECKER V., FISCHER E.: Herokeach Haivri (1969), 13, 350 ref. J. Pharm. Sci. (1971), 60, 7, 960; 14. GASCHEN M.: Pharm. Acta Helv. (1967), 42, 6, 365; 15. GAS-

CHEN M.: Pharm. Acta Helv. (1970), 45, 10, 614; 16. HESS H., SPEISER P.: Experientia (1958), 14, 362; 17. HESS H.: Pharm. Acta Helv. (1964), 39, 12, 721; 18. HORVATH G., PÉTER M., DOMOKOS L., BÍRÓ I.: Microbiol. Parazitól. Epidemiol. (1968), 13, 6, 561; 19. IVANOVA L., KONDRATIEVA A.: Farmacia (Moscova) (1970), 19, 1, 23; 20. JENSEN R. G., SAMPUGNA J., QUINN J. G., CARPENTER D. L., MARKS T. A.: J. Amer. Oil Chemists Soc. (1965), 42, 12, 1029; 21. KLIEWE H. și colab.: Zbl. für Bakt. I. O. (1958), 173, 307; 22. PATEL N., ROMANOWSKI J.: J. Pharm. Sci. (1970), 59, 3, 372; 23. PELLÉNE ELEK A., PELLE P.: Gyógyszerészet (1971), 15, 3, 94; 24. SCHUSTER G.: Kosmetik (1968), 41, 17, 541; 25. SMAZYNSKI T., KROWCZYNSKI L.: Dissert. pharm. et pharmacol. (1967), 19, 5, 591; 26. SPEISER P.: Pharm. Acta Helv. (1968), 43, 4, 193; 27. VARMA K. C., HALL N. A., RISING L. W.: J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed. (1955), 44, 336, 28. VOGEL I., PRAHL L.: Sorbinsäure als Konservierungsmittel, Fachbuchverlag, Leipzig, 1969.
