

ISSN 0428-0296

ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LVI

2009

Книжка/Number 1-4

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

Главен редактор: Ст. Николов

Секретар: Ал. Златков

Редакционна колегия:

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

Editor in Chief: St. Nikolov

Assistant Editor: Al. Zlatkov

Editorial Board:

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova,
St. Titeva, I. Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

Адрес на редакцията

Фармацевтичен факултет
ул. "Дунав" 2, София 1000
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

Address of Editorial Board

Faculty of Pharmacy
2, Dunav str., Sofia 1000
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎ (+359 2) 987 987 4
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

<i>Ил. Кръстева, М. Йотова, И. Попов, П. Здравева и Ст. Николов.</i> Фитохимично изследване на листа и корени от <i>gypsophila trichotoma wend.</i> чрез газ хроматография/маспектрометрия.....	3
<i>К. Йончева и Х. М. Ираче.</i> Приготвяне на аминок-пегилирани полианхидридни наночастици чрез метод на изместване на разтворителя	7
<i>Р. Николов, Я. Чекаларова, Д. Пехливанова, Л. Танчева, В. В. Петков и К. Якимова.</i> Ефекти на кофеина върху телесната температура на плъхове при норма и депресия	10
<i>В. Цанкова и Д. Стефанова.</i> Протективни ефекти на червеното вино върху микотоксин-индуцираната липидна пероксидация в модел на тъканни срезове от тънко черво на плъх	15
<i>В. Цанкова и Д. Стефанова.</i> Микотоксин повишава освобождаването на ензима алкална фосфатаза в модел на тъканни срезове от тънко черво на плъх	21
<i>М. Мичева, М. Кондева-Бурдина и В. Вичева.</i> Проучване на хепатотоксичността на цитизин (Tabex®) в сравнение с никотин в изолирани хепатоцити от плъх	27
<i>Г. Драганов, Ф. Рибарова и П. Пейков.</i> L-tyrosine съдържащи хранителни добавки – здравни претенции.....	33
<i>Т. Ангелов, Д. Обрешкова и В. Таиков.</i> Стабилизатори в лекарствата. подбор, употреба и действие	38
<i>И. Йонкова и П. Прокси.</i> От растението до лекарството: противотуморни агенти	45
<i>И. Миладинова и К. Йончева.</i> Полимерните мицели като нови лекарствени системи във фармацевтичната технология	57
<i>Б. Дудева.</i> Потребностите на студентите по фармация да общуват на английски език	62
In memoriam	69
Информационен отдел	71

CONTENTS

Original articles

<i>I. Krasteva, M. Yotova, I. Popov, P. Zdraveva and S. Nikolov.</i> Phytochemical study of leaves and roots of <i>gypsophila trichotoma wend.</i> using gas chromatography – mass spectrometry	3
<i>K. Yoncheva and J. M. Iраche.</i> Preparation of amino-pegylated poly(anhydride) nanoparticles applying solvent displacement method	7
<i>R. Nikolov, Y. Chekalarova, D. Pehlivanova, L. Tancheva, V. V. Petkov and K. Yakimova.</i> Effect of caffeine on body temperature of rats in norm and depression.....	10
<i>V. Tsankova and D. Stefanova.</i> Red wine protects against mycotoxin-induced lipid peroxidation in rat precision-cut intestinal slices.....	15
<i>V. Tsankova and D. Stefanova.</i> Mycotoxin increases alkaline phosphatase release in rat precision-cut intestinal slices	21
<i>M. Micheva, M. Kondeva-Burdina and V. Vicheva.</i> Study on hepatotoxicity of cytosine (Tabex®) compared with nicotine in freshly isolated rat hepatocytes.....	27
<i>G. Draganov, F. Ribarova and P. Peykov.</i> L-tyrosine containing food supplements – health claims	33
<i>T. Angelov, D. Obreshkova and W. Tashkov.</i> Drug preservatives: selection, use and action	38
<i>I. Ionkova and P. Proksch.</i> From planta to pharmaca: anticancer agents.....	45
<i>I. Miladinova and K. Yoncheva.</i> Polymeric micelles as new drug delivery systems in pharmaceutical technology	57
<i>B. Dudeva.</i> On the needs of pharmacy students to communicate in english: a study.....	62
In memoriam	69
Informasion section	74

ФАРМАЦИЯ 1-4/2009

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар и стилов редактор *Св. Цветанова*
Корекция *Св. Цветанова*
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 01.03.2010 г.
Печатни коли 9.5, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65
e-mail: svetlamu@mail.bg

СТАБИЛИЗАТОРИ В ЛЕКАРСТВАТА. ПОДБОР, УПОТРЕБА И ДЕЙСТВИЕ

Т. Ангелов¹, Д. Обрешкова² и В. Ташков³

¹Отдел „Контрол на качеството“, УНИФАРМА ЕОД

²Катедра „Фармацевтична химия“, Фармацевтичен факултет, Медицински университет – София

³Университетска болница “Лозенец”

Резюме. Добавянето на стабилизиращи агенти спомага съставът и качествата на различните лекарства да се запазват във времето непроменени и да се осигури достатъчна продължителност на техния лечебен ефект. Съвременното схващане е, че консервиращите вещества могат да изпълняват няколко различни функции: да предпазват продукта от микробно замърсяване, да стабилизират неговата хомогенност или да предотвратяват нежелани химични процеси. Концентрациите на използваните консерванти в лекарствата трябва да бъдат адекватни на целта, за която са предназначени, и да не оказват нежелани и вредни въздействия върху хората. Използването на консервантите в лекарствата се регламентира от здравното законодателство, тъй като те спадат към групата на така наречените рискови (опасни) за здравето вещества. Правилният подбор на консерванти позволява да се осигури запазването на качествата на лекарствата и да се избегне нежеланият ефект на консервантите върху здравето на хората.

Ключови думи: лекарства/стабилизатори, парабени, консервиращо действие

DRUG PRESERVATIVES: SELECTION, USE AND ACTION

T. Angelov¹, D. Obreshkova² and W. Tashkov³

¹UNIPHARMA, Department “Quality Control”

²Department “Pharmaceutical Chemistry”, Pharmaceutical Faculty, MU – Sofia

³University Hospital “Lozenets”

Summary. The addition of preservatives prevents undesirable changes of the composition and quality of the drugs and assures the duration of their medicinal effect until their expiration date. There are three aspects of the modern understanding of preservative action – to protect the drugs against microbial pollution, to stabilize drug consistency and to avoid undesirable chemical processes. The concentration of the drug preservatives has to be on the one hand adequate to the aim there are in use and on the other hand to be safe. The utilization of the preservatives in the drugs is regulated by the Health legislation, as the preservatives belong to the so called hazardous substances. The proper selection of preservatives added to pharmaceutical products helps to prolong shelf life and maintain sterility and also to avoid undesirable effects to the human health.

Key words: drug preservatives, parabens, preservative action

Стабилизатори

Най-разпространеното определение за стабилизатори, използвани в течни лекарствени форми, е, че те са съединения с бактерицидно, бактериостатично или фунгицидно действие [10]. Нарастващите изисквания, както и използването на все по-широк кръг вещества с подобно действие налагат разширяване на смисъла на понятието стабилизатор. Съвременното схващане е, че стабилизиращите вещества могат да изпълняват няколко различни функции: да предпазват продукта от микробно замърсяване, да стабилизират неговата хомогенност или да предотвратяват

нежелани химични процеси. В зависимост от вида на тяхното действие консервантите се разделят на следните три групи [13]:

1. Вещества с антимикробно действие.
2. Вещества с антиоксидантно действие.
3. Стабилизиращи агенти.

При определени условия един стабилизатор може да изпълнява ролята на антимикробна съставка и на антиоксидант.

Стабилизаторите имат свои представители в различни групи съединения и в трите агрегатни състояния. Многообразието на химичните и физичните им свойства се определя и от разнообразието

разните им приложения като антимикробни, антиоксидантни и стабилизиращи агенти [9, 13]. Едни от най-използваните представители на стабилизаторите са някои от слабите органични киселини (бензоената, сорбиновата, пропионовата, лимонената, винената и фосфорната), както и техните соли, естерите на парахидроксибензоената киселина, серният диоксид, нитрати, нитрити, сулфити, антиоксидантите бутилхидроксианизол и бутилхидрокситолуен, аскорбинова киселина, α -токоферол (витамин Е), лектин, етилендиаминотетраоцетната киселина и нейните соли, както и много други. Дали едно вещество ще прояви стабилизиращата си способност, много силно зависи от средата, в която се използва. Ето защо трябва внимателно да се вземат под внимание типът продукт, водното съдържание, рН средата, както и условията на съхранение [17].

В началото на XIX век понятието *стабилизатор* се е ограничавало до антимикробен компонент. През 1908 г. в Съединените американски щати за първи път официално е разрешен за използване в храни за хора натриевият бензоат [28]. Днес като стабилизатор се тълкува всяко добавено вещество, чиято роля е да запази продукта и неговите качества непроменени във времето [13, 25, 28].

Такъв тип вещества са и антиоксидантите. Антиоксидантните добавки се правят, за да предотвратят или забавят протичащите окислително-редукционни реакции и вредния им ефект, водещ до разграждането на липидите, витамините, пигментите и други полезни вещества в храните, козметичните препарати и лекарствените продукти. Антиоксидантите улавят активните форми на кислорода и свободните радикали, прекъсват веригите на окисление и по този начин запазват продукта от вредното им действие.

Ролята на стабилизиращите агенти, известни още като хелатообразуващи, е да запазват хомогенността на продуктите. Това е особено важно за еднородността на техния състав. При нехомогенен продукт неговите компоненти се разпределят неравномерно, а това може да доведе до необратими промени, дори до появата на микробно замърсяване. Особено важна е ролята на стабилизиращите агенти за емулсионните и суспензионните разтвори. Нарушаването на хомогенността при тях води до появата на допълнителна втора фаза в продукта [10]. При емулсиите ясно се обособяват мастна и водна фаза, а на граничната повърхност между тях започват да

протичат мас-обменни процеси до установяване на нови равновесни концентрации на разтворените вещества. При установеното ново равновесие между двете фази липофилните компоненти са по-силно представени в мастния слой, респективно хидрофилните във водния. При използване на консервиращи агенти с бактериостатично действие, по-добре разтворими в мастната фаза, е възможна появата на микробно замърсяване във водния слой. При суспензиите една от задачите на хелатообразуващите агенти е да свързват в комплекси и по този начин да деактивират следовите количества от някои метални йони, които могат да имат неблагоприятно въздействие върху качествата на продукта [2]. Нарушаването на хомогенността при тях води най-често до появата на твърда фаза – утайка.

Антимикробните агенти попадат в групата на така наречените рискови вещества. Те не проявяват селективно токсичното си действие само към бактериалните клетки. Веднъж попаднали в човешкия организъм, те нарушават жизнените функции на клетките. Наличието на стабилизатори може да доведе до протичане на нежелани процеси, които предизвикват механични повреди в клетъчната и митохондриалната мембрана [11, 16], загуба на енергийни ресурси или на клетъчни органели. Всичко това води до неправилното функциониране на клетката и дори до нейната смърт. Ето защо е от особена важност да се знае при какви условия би се проявил най-силно техният токсичен ефект. При прилагането им в големи дози или при по-продължителна употреба на стабилизиращи продукти по-лесно се проявява токсичният ефект на стабилизаторите. Той може да се изразява в зачервяване и подуване на кожата, обриви, дерматити, астма и други. При по-чувствителните индивиди това може да доведе и до по-сериозни последици, като алергизиране на пациентите и дори анафилактичен шок [8, 14, 18, 19]. Голяма част от консервантите се съдържат естествено в природните продукти под формата на различни съединения [23]. В много от храните от растителен произход те се срещат под формата на естери и соли [27], без да оказват някакво дразнещо въздействие при повечето хора. При лекарствата, и по-специално при галеничните и ампулните форми (при очните капки), евентуално дразнещо действие се наблюдава, тъй като консервантът е в пряк допир с фините епителни клетки на роговицата на окото [9]. Ле-

карствата са продукти, които се ползват за относително кратък период от време, затова от по-голямо значение е концентрацията на стабилизатора. При лекарствата, използвани за хронични заболявания обаче, трябва да се държи сметка и за продължителността на лечението (в случаите на употребата на лекарствен продукт, съдържащ стабилизатори).

Много често в литературата на коментар се подлага въпросът за концентрацията на стабилизаторите в крайните продукти. Този параметър е често дискутиран поради двойствения резултат, който може да бъде постигнат при повишаване съдържанието на стабилизатора. От една страна, тази концентрация трябва да е достатъчно висока, за да бъде преодолян съществуващият вътрешен праг на резистентност на бактериалните клетки и да бъде постигнат желаният бактерициден или бактериостатичен ефект, а от друга страна, да бъде достатъчно ниска, за да не предизвика нежелана реакция у ползвателя на продукта. Неблагоприятното въздействие на някои стабилизатори върху човека [15, 18, 19] е констатирано многократно в редица токсикологични изследвания [1, 20, 26]. Особено рисково това може да бъде при по-чувствителните индивиди.

Антимикробните агенти са най-богатата и разнообразна група на консервантите. Това се определя и от многообразието на микроорганизмите, срещу които е насочено тяхното действие. В зависимост от въздействието им върху микрофлората те се делят на две групи – агенти с бактерицидно и с бактериостатично действие [9, 11]. Консервантите с бактерицидно действие унищожават наличните в продукта микроорганизми, а тези с бактериостатично предотвратяват развитието и размножаването на вече присъстващите, като по този начин запазват непроменено с течение на времето състоянието на микрофлората, и поддържат количеството на микроорганизмите в норми, безопасни за здравето на човека [9, 11, 13]. Понякога концентрацията на един стабилизатор определя дали той да има бактерицидно или бактериостатично действие [11].

Голям е рискът от замърсяване на нестерилните лекарствени продукти по време на производството и на употребата им, особено на тези с високо водно съдържание [28]. Микробното замърсяване може да доведе до разваляне на продукта и загуба на неговите терапевтични свойства, но още по-опасно е, ако замърсителите са патогенни – тогава това може да бъде причина за сери-

озни инфекции [28]. Като основни източници на замърсяване могат да бъдат посочени суровините (особено водата), въздухът, персоналът и опаковъчните материали [9]. Съществува голяма вероятност продуктите да бъдат замърсени при физически контакт с микробно замърсени повърхности [10]. Такива могат да бъдат както самите работници, така и случайно попаднали във въздуха механични замърсители. Това налага и използването на стабилизатори като съставки на някои лекарствени форми.

Идеалният стабилизатор трябва да притежава редица качества, като антимикробна активност срещу голям брой микроорганизми, химична и физикохимична стабилност, съвместимост с останалите съставки на лекарствения продукт и с опаковката му, както и да няма дразнещ ефект и като цяло да е безвреден за здравето. Стабилизатор, който по принцип убива или спира растежа на микробните клетки, би могъл да бъде токсичен и за клетките на човешкия организъм [9]. Понякога, когато антимикробните агенти се използват в комбинация, се постига усилване на тяхното бактерицидно и бактериостатично действие спрямо определени типове микроорганизми, дори при по-ниски от определените концентрации. Такова синергистично действие при едновременното използване на някои стабилизатори, или при добавянето на определено съединение, което да промотира тяхното антимикробно действие, може да понижи концентрациите им и така да намали тяхната токсичност [11].

При избора на стабилизатор трябва да се държи сметка за:

- (а) токсичността и дразнещото действие на стабилизатора;
- (б) рН диапазона с максимална антимикробна активност;
- (в) съвместимост с другите компоненти на лекарствения продукт;
- (г) устойчивост при условията на производство;
- (д) синергизъм или антагонизъм в антимикробна активност.

Фармакопейните предписания за продуктите на фармацевтичното производство и особено за ампулните форми са да бъде осигурен стерилитет на продукта по време на изготвянето му, при опаковката и при ползването му. Стабилизаторите се използват предимно за предпазване от микробно замърсяване при лекарства, които се опаковат в опаковки за повече от една доза [10, 21].

Такива са течните, капковите и някои ампулни форми. Поради дразнещото им действие обаче, характерно за повечето стабилизатори, те са непопулярни и не се препоръчват за използване или дори се изключват от рецептурите, освен ако това не е крайно наложително. В случаите, когато производството на продуктите показва подходяща атимикробна активност, използването на стабилизатори не е наложително.

Европейската, Американската и Британската фармакопея изискват предварителна оценка на стабилизаторите. Оценяването се прави спрямо широк кръг различни видове микроорганизми, както и на основните класове патогени. Тестът има за цел да покаже кинетичната картина на загубата на жизнеспособността на нежеланите микроорганизми. Възможни биологични замърсители и техни представители са: Грам-положителните (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) и Грам-отрицателните (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi murium*, *Salmonella abony*) бактериални видове, дрожди (*Candida albicans*), плесени (*Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*) и други техни разновидности [6, 7, 8, 9]. Установено е, че от най-често срещаните замърсители при офталмологичните медикаменти Грам-отрицателните микроорганизми (*Serratia marcescens*) са по-често срещаните замърсители от Грам-положителните (*Staphylococcus epidermidis*) [8], а видовете *Pseudomonas*, и в частност *Pseudomonas ceracia*, са основните причинители на замърсяване на продуктите от околната среда въобще [28]. Процедурата за оценяване ефективността на стабилизаторите, използвани във фармацевтичното производство, е описана в различни фармакопеи. Различните етапи на провеждане на теста, като приготвяне на посявката, хранителната среда и инкубационните условия, са детайлно описани. Не е взет предвид обаче потенциалният ефект от различните компоненти на една лекарствена формулировка спрямо чувствителността на микроорганизмените замърсители към използваните стабилизатори [28]. Възможно е тези компоненти да имат промотиращо или инхибиращо действие, което би следвало да бъде отчетено. Така например ако комбинацията от стабилизатори не е ефективна срещу определени микробни замърсители в една лекарствена формулировка, то тя може да се окаже добра при прилагането ° при други продукти или

обратното, ако е била успешно прилагана, да се превърне в неефективна.

Във всички описани тестове за определяне ефикасността на стабилизаторите се използват два продукта, със и без стабилизираща формула. Продуктът без стабилизатори е референтен. Той служи за оценяване жизнеспособността на посетите микробни клетки и тяхната способност да растат и да се развиват в тествания продукт [28].

Механизъм на антимикробното действие

Широкото приложение на слабите органични киселини, както и тяхната употреба като антимикробни агенти ги определят като стабилизатори от класически тип. Известно е, че определени групи микроорганизми изискват оптимални рН стойности за развитието си, а добавянето на този тип съединения може осезаемо да повлияе на рН на средата и на развитието на тези групи организми. Молекулите на слабите органични киселини инхибират растежа на бактериалните клетки и плесените, а сорбиновата киселина спира развитието и нарастването и на бактериалните спори [5, 6]. В разтвор слабите органични киселини съществуват в рН зависимото равновесие между молекули в недисоциирано и дисоциирано състояние [5, 6]. Този тип консерванти имат най-силна антимикробна активност при ниски стойности на рН. Причината за класическото схващане за антибактериалното им действие се приписва на свободно преминаващите им молекули през цитоплазмената мембрана [5, 6]. Лесното им проникване се определя от липофилността на недисоциираното състояние [7] при ниски рН стойности. При тези условия те нямат заряд и лесно преминават през стените на клетъчната мембрана в цитоплазмата на бактериалната клетка. Попаднали във вътрешността °, където рН на средата е по-високо, слабите органични киселини се дисоциират. Резултатът е получаването на две нови частици, анион и протон, които поради наличието на заряд вече не могат свободно да преминат обратно през мембраната [5, 6] и се получава рН градиент от двете страни на мембраната. Последствията от този процес са натрупване на аниони и протони вътре в самата клетка. Степента на дисоциируемост на някои от слабите органични киселини, използвани като консерванти, е представена в табл. 1 [7].

Таблица 1. Процентно отношение на недисоциираната форма при слабите органични киселини при различни стойности на рН

рН зависимост на степента на дисоцииране на някои от слабите органични киселини					
рН стойност					
Органична киселина	3	4	5	6	7
Оцетна киселина	98.5	84.5	34.9	5.1	0.54
Бензоена киселина	93.5	59.3	12.8	1.44	0.144
Лимонена киселина	53.0	18.9	0.41	0.006	< 0.001
Парабени	> 99.99	99.99	99.96	99.66	96.72
Пропионова киселина	98.5	87.6	41.7	6.67	0.71
Сорбинова киселина	97.4	82.0	30.0	4.1	0.48

Както се вижда от таблицата, дисоцируемостта на слабите органични киселини нараства с повишаване на стойността на рН, респективно намалява броят на недисоцируемите молекули, а с това намалява и антимикробната функция. Следователно тези съединения не са подходящи за продукти с рН стойност, равна и по-висока от 4. За разлика от тях неполярни съединения като парабените показват изключително слаба рН зависимост.

Ето защо токсичното действие на слабите органични киселини върху бактериалните клетки трябва да се разглежда като едновременно действие в няколко направления [5]:

- Повреждане и дори разкъсване на клетъчната мембрана и нарушаване на избирателната ° пропускливост;
- Инхибиране на основните метаболитни реакции;
- Нарушаване на вътреклетъчното рН и хомеостазата;
- Натрупване на токсични аниони.

За разлика от слабите органични киселини парабените не се натрупват под формата на аниони в микробната клетка. Според експериментите използването на хидрофобните парабени е един от най-лесните начини за разстройване функциите на митохондриите, което е съпроводено от понижаване на окислителното фосфорилиране и деполяризация на митохондриалната мембрана [16]. Направените наблюдения подсказват, че именно митохондриите са основните мишени на химически индуцираните увреждания и разстройването на техните функции неминуемо води до смъртта на клетката. Например недостатъчният запас от аденозинтрифосфат ограничава протичането на всички енергоемки реакции. Деполяризацията на вътрешната митохондриална мембрана води до повишаване на пропускливостта ° за нискомолекулни съединения, което е

един от основните начини за причиняване на клетъчни повреди [16]. Смята се, че друга проява на тяхното силно антимикробно действие се дължи на добрата им липопоразтворимост, която им позволява свободно да се задържат в клетъчната мембрана, както и да преминават през нея. Предполага се, че поради добрата си разтворимост в мембраната на бактериалната клетка парабените нарушават нейния двоен липиден слой, като по този начин оказват влияние върху транспортните процеси в клетката [22]. Освен смущения във функциите на мембраната, това може да доведе и до нарушаване на механичната ° цялост [6].

За да предотвратят загубата на полезни вещества, микробите развиват резистентност към стабилизаторите. Най-много доказателства и факти съществуват за присъщия на бактериите праг на резистентност към ниски концентрации на слабите органични киселини (Brul и др., 1999). Натрупани са значително количество данни за съществуващия вътрешен праг на резистентност на бактериалните клетки (Brul и др., 1999). При ниски концентрации на антибактериалната съставка този праг не се достига и бактериите продължават своето развитие без съществени нарушения на жизнения им цикъл. При достатъчно високи концентрационни нива на стабилизатора обаче този праг на резистентност не може да предотврати неблагоприятното и дори пагубното въздействие на антимикробните агенти върху микробните клетки и основните им жизнени функции. Познати са и микроорганизми, които притежават комплекс от защитни системи, позволяващи им да оцеляват при рН 3, и ги правят резистентни към оцетната, маслената и пропионовата киселина, а някои видове, като *Escherichia coli* O157:H7 [24], са резистентни дори към бензоената киселина и устойчиви дори при рН 2. Някои бактерии притежават специфични ензими,

които могат да разграждат определен тип стабилизатори. Такива са *Pseudomonas aeruginosa*, които могат да разграждат метил парабена [6]. Плесените притежават ензими, които разграждат сорбиновата киселина до пентадиен [5]. Някои бактерии са развили способността да изхвърлят обратно през клетъчната мембрана една част от натрупаните аниони и протони, а другата част се реасоцират отново в съответствие с новата стойност на рН. Клетъчната обвивка се адаптира към условията и отново започва да изпълнява функциите си [5, 6].

От разгледаните дотук примери за резистентност на микроорганизмите може да се направят важни изводи за правилното консервиране на продуктите. То трябва да включва избор на подходящ стабилизатор, при подходящи условия, в подходящи концентрационни нива.

Влияние на вторичните добавки

При приготвянето на лекарствени препарати от групата на суспензии, сиропи и тинктури се използват и помощни вещества за подобряване на стабилността и придаване на подходящи вкусови качества на лекарството за орален прием [10]. Такива вещества са захарозата, сорбитолът, глицеролът или пропиленгликолят. Добавянето на такива помощни вещества, от една страна, повишава възможността за микробно замърсяване, но от друга, може да доведе до така желания антимикробен ефект. Ваг и Тисе установяват, че 50% разтвор на глицерол и 30% разтвор на пропиленгликол инхибират развитието на *Monilia albicans*. В присъствието обаче на 10% сорбитол наличните концентрации от глицерол и пропиленгликол губят от силата на антимикробния си ефект. Установено е също, че при определени условия сорбитолът преестерифицира парабените и намалява тяхната консервираща способност [3]. Друг експеримент показва, че 60% инвертна захар потиска развитието на *Aspergillus niger* [10]. Някои видове сиропи е трудно да бъдат запазени от микробно замърсяване, дори ако съдържат вещества, които във високи концентрации проявяват антимикробно действие. В такива случаи се използват стабилизатори в подходящи концентрации. Така например наличието на пропиленгликол, дори и във високи концентрации, не може да осигури запазване на микробната чистота на продукта, но наличието на този компонент дори и в ниски концентрации подсилва действието на парабените и разширява спектъра им на действие [10]. Изводът, който е направен, е, че освен

компоненти, които във високи концентрации притежават някакви антимикробни свойства, трябва да се използват и стабилизатори, които да осигуряват запазване на продукта от микробно замърсяване срещу широк кръг микробни замърсители.

Стабилизатори при емулсии

Парабените (метилпарабен и пропилпарабен) са смятани за едни от най-подходящите стабилизатори за употреба при емулсиите поради много добрата си физикохимична съвместимост с тях [21]. За стабилизиране на суспензиите и емулсиите се използват инертни суспендиращи и емулгиращи вещества, целта на които е да забавят седиментацията и да повишават физическата стабилност на системата [10]. Такива агенти са вещества, производни на целулозата. Тези компоненти са обект на атака от страна на микробите и тяхното разпадане намалява полезността им за фармацевтичния продукт, като продуктът започва да губи своята хомогенност. При консервирането на лекарствени продукти, съдържащи такива помощни вещества, е необходимо да се имат предвид някои от свойствата на тези стабилизиращи агенти. Метил целулозата например образува комплекси с *p*-хидроксibenзоената киселина и естерите ѝ [12]. Установено е, че такива стабилизиращи агенти силно понижават активността на парабените и бензалкониевия хлорид [12].

Обобщение

Най-разпространените стабилизатори в българските лекарства са парабените, бензоената и сорбиновата киселина. Добавянето на тези консервиращи вещества спомага за запазване на свойствата на продукта за по-дълго време и за улесняване на неговото съхранение. Това позволява качествата на продукта, съставът, физичните и биологичните му свойства да се запазват в определени граници в обявения срок на годност. Тъй като по време на производството, а и след това, всеки продукт е подложен на въздействието на околната среда, това може да доведе до отклонения от параметрите му и продуктът да стане негоден за употреба. Ето защо правилният подбор на консерванти позволява да се съхранят за по-дълъг период непроменени съставът и качествата на различните лекарства и да се осигури достатъчна продължителност на техния лечебен ефект.

Осъществяването на строг контрол на съдържанието на стабилизаторите, както и създаването на надеждни и универсални методи за техния анализ, е важно и широко застъпено в практиката.

Библиография

1. Узунова, Ст., Д. Обрешкова, К. Любомирова, А. Тачев и И. Пенчева. Нитрозамините в козметичните продукти. Българска национална асоциация етерични масла, парфюмерия и козметика. – Научно информационен бюлетин, 2006, № 28, 10-15.
2. Агамони, Ф. Focus on processed agricultural products, *Chemical Preservatives – K-state research and extension* august, **11**, 2000, № 2.
3. Блансо, М. et al. Resolution of isomers of sorbitol-paraben esters by chromatographic and electrophoretic techniques. – *J. Chromatography B*, **752**, 2001, 99-105.
4. *Eur. Ph.*, 2006.
5. Brul, S. et al. Preservative agents in foods Mode of action and microbial resistance mechanisms. – *Int. J. Food Microbiology*, **50**, 1999, 1-17.
6. Brul, S. et al. Physiological actions of preservative agents: prospective of use of modern microbiological techniques in assessing microbial behaviour in food preservation. – *Int. J. Food Microbiology*, **79**, 2002, 55-64.
7. Comprehensive reviews in food science and food safety – Chapter III Factors that Influence. – *Microbial Growth.*, **2**, 2003.
8. Ernest, N. et al. Urticaria and angioedema: a clinical spectrum. – *Annals of allergy, asthma & immunology*, **76**, 1996, 484-496. EU2002.
9. Ferrer, P. et al. Ocular tolerance of preservatives and alternatives. – *Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut.*, **53**, 2002, 363-280.
10. Jaconia, D. Preservatives in pharmaceutical products. – In: *Quality control in the pharmaceutical industry* (ed. Murray S. Cooper), Academic press New York, San Francisco, London, 1972, volume I 102-126.
11. Johnston, M. et al. Membrane damage to bacteria caused by single and combined biocides. – *J. Applied Microbiology*, **94**, 2003, 1015-1023.
12. Kurup, T. et al. Interaction of preservatives with macromolecules. Part II. Cellulose derivatives. – *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **70**, 1995, 187-193.
13. Lin, H. et al. *Journal of Food and Drug. – Analysis*, **7**, 1999, № 4, 291-304.
14. Malkolm, W. et al. Chronic urticaria. – *N. En. J. Med.*, **332**, 1995, № 26.
15. Масу, Е. et al. Immediate hypersensitivity to methylparaben causing false-positive results to local anesthetic skin testing or provocative dose testing. – *Permanente J.*, **6**, 2002, № 4, 17-21.
16. Nakagawa, Y. et al. Role of mitochondrial membrane Termeability Transition in p-Hydroxybenzoate Ester-Induced Citotoxicity in Rat. – *Hepatocytes, Biochemical Pharmacology*, **58**, 1999, 811-816.
17. Restek Corporation – Restek HPLC (2002), *Analysis of Preservatives Using HPLC, Applications note #59398*
18. Soni, M. G. et al. Safety assessment of propyl paraben: a review of the published literature. – *Food Chem. Toxicol.*, **39**, 2001, № 6, 513-532.
19. Soni, M. et al. Evaluation of the health aspects of methyl paraben. – *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 2002, 1335-1373.
20. Узунова, С. В., А. К. Тачев, К. Д. Любомирова, Д. П. Обрешкова et I. П. Пенчева. Legislation on cosmetic products in regards with nitrosamines. – *J. Environmental Protection and Ecology*, 2008, № 4, 903.
21. Sznitowska, M. et al. Physicochemical screening of antimicrobial agents as potential preservatives for submicron emulsions. – *Eur. J. Pharmaceut. Sci.*, **15**, 2002, 489-495.
22. Valkova, N. et al. Hydrolysis of 4-Hydroxybenzoic acid Esters (Parabens) And Their Aerobic Transformation into Phenol by the Resistant *Enterobacter cloacae* Strain EM, Applied an *Environmental Microbiology*, **67**, 2001, № 6, 2404-2409.
23. Von Elbe, J. et al. (1996) In: *Food Chemistry*. ed. Marcel Dekker INC, New York – Basel – Hong Kong, pp. 782-792.
24. Yamamura, A. et al. Antimicrobial Effect of Chemical Preservatives on Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. – *J. Health Sci.*, **46**, 2000, № 3, 204-208.
25. Yamazaki, H. Safety Assessment of food preservatives at daily intake level by platelet function. – *Jpn. J. Food Chem*, **5**, 1998, № 2.
26. Узунова, Ст., Д. Обрешкова, I. Пенчева, К. Любомирова et А. Тачев. Studies on Bulgarian cosmetic products for nitrosamines content. 13th panhellenic pharmaceutical congress, Athens, Greece, full text CD. – *Eur. J. Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **32**, 2007, special issue.
27. Zakour, O. *Chemical Food Preservatives: Benzoate & Sorbate*, Venture A Quarterly Newsletter Published by New York State Food Venture Center Geneva, NY Summer **1**, 1998, № 2, (http://www.nysaes.cornell.edu/necfe/pubs/pdf/Venture/venture2_chemical.html).
28. Zani, F. et al. Evaluation of preservatives effectiveness in pharmaceutical products: the use of a wide strain of *Pseudomonas cepacia*. – *J. Applied Microbiology*, **83**, 1997, 322-326.

✉ **Адрес за кореспонденция:**

Донка Обрешкова
Катедра „Фармацевтична химия“
Фармацевтичен факултет
Медицински университет – София
ул. „Дунав“ № 2
1000 София
e-mail: phddanka@yahoo.com

✉ **Address for correspondence:**

Danka Obreshkova
Department of Pharmaceutical Chemistry
Faculty of Pharmacy
Medical University
2 Dunav Str.
1000 Sofia
e-mail: phddanka@yahoo.com