

## CONTRIBUȚII LA SELECȚIONAREA DE CONSERVANȚI PENTRU FORME FARMACEUTICE LICHIDE DE UZ INTERN

L. Adam, Eva Szánthó, Iolanda Csegedi, Zamfira Csath-Stinzel,  
M. Giurgiu, L. Domokos, Doina Bilca, I. Formanek

În ultimele două decenii, problema încărcăturii microbiene a formelor farmaceutice nesterile s-a situat în centrul preocupărilor numeroaselor colective de cercetare, datorită, pe de o parte, accidentelor terapeutice produse de preparate contaminate de microorganisme patogene, pe de altă parte, datorită degradării rapide a multor medicamente în prezența unui număr mai mare de microorganisme (6, 7, 15, 20).

Cu toate măsurile luate în vederea asigurării condițiilor corespunzătoare la prepararea medicamentelor (2, 13, 15), în multe situații cerințele microbiologice pot fi asigurate numai prin adăugare de conservanți.

Deși s-au publicat impresionant de multe lucrări privind conservarea medicamentelor (3, 4, 5, 7, 14, 21), nici în prezent nu dispunem de conservanți care să satisfacă toate cerințele. Din acest motiv se practică tot mai des asocierea de 2—3—4 conservanți (12, 16, 17, 20, 27) în vederea asigurării unei eficiențe mărite și al unui spectru de acțiune mai larg, tendință ce se reflectă și în F.R. IX prin formula soluției conservante (0,075% nipagin M + 0,025% nipasol). Dar numeroase date din literatura de specialitate (6, 14, 21) precum și cercetările noastre anterioare (1, 9, 18, 22) arată că efectul antimicrobian al amestecurilor de nipaesteri nu este destul de sigur. Faptul că farmacopeea preconizează amestecurile de nipagin M și nipasol în două raporturi (9+1 la siropuri și 7,5+2,5 la Sol. conservans) denotă tot o incertitudine în utilizarea acestor combinații.

Pentru a obține amestecuri mai eficiente, ne-am propus studiul activității antimicrobiene a unor sisteme bi- și tricomponente, în comparație cu cea a soluției conservante, respectiv cu activitatea separată a fiecărui component.

Am studiat în special asocierea nipaesterilor cu acid sorbic, respectiv acid benzoic, amestecuri care au dat rezultate promițătoare la conservarea unor emulsii de tip U A (9). Am urmărit și influența pH-ului mediului asupra activității conservanților presupunând că asocierile contribuie în primul rând la lărgirea limitelor de utilizare atât în mediu ușor alcalin cât și în cel acid ale acestor preparate.

### Material și metodă

S-a studiat comparativ activitatea antimicrobiană a următorilor conservanți :

1. Acid sorbic 0,1%; 2. Acid benzoic 0,1%; 3. Nipagin M 0,1%; 4. Nipasol 0,03%; 5. Nipagin M+Nipasol (0,075+0,025%); 6. Nipagin M+Nipasol (0,09+0,01%); 7. Acid sorbic+Nipagin M (0,1+0,1%); 8. Acid sor-

bic+Nipasol (0,1+0,03<sup>0/0</sup>); 9. Acid sorbic+Nipagin M+Nipasol (0,1+0,1+0,03<sup>0/0</sup>); 10. Acid benzoic+Nipagin M (0,1+0,1<sup>0/0</sup>); 11. Acid benzoic+Nipasol (0,1+0,03<sup>0/0</sup>); 12. Acid benzoic+Nipagin M+Nipasol (0,1+0,1+0,03<sup>0/0</sup>).

Luind în considerare indicațiile unei comisii de specialiști a F.I.P. (11), studiind și influența pH-ului mediului, urmărirea activității conservanților s-a realizat după cum urmează:

S-au însămintat 4 serii de soluții de peptonă 1% sterilă avind pH 3—5—7—8 (asigurate cu sisteme tampon formate din Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> și acid citric) cu următoarele microorganisme: Staphylococcus aureus ATCC 6538 (2,5.10<sup>5</sup> ml); Escherichia coli ATCC 25922 (2,5.10<sup>5</sup> ml); Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (2,5.10<sup>5</sup> ml); Candida albicans (1,5.10<sup>4</sup>/ml).

La 24 ore, 7 zile și 14 zile s-au prelevat probe cu o ansă calibrată (0,02 ml) și s-au însămintat pe medii de cultură solide (geloză simplă, respectiv Sabouraud). După o incubare de 20 ore (respectiv 72 ore la Candida) s-au numărat coloniile formate.

### Rezultate și discuții

Rezultatele obținute sînt prezentate într-un tabel sinoptic, în care sînt trecute numărul convențional de colonii determinat la 1—7—14 zile după însămintare și „eficacitatea“ în  $\frac{1}{4}$  a conservanților [eficacitate = (numărul total de colonii la mărtoare) : numărul total de colonii la probă]  $\times$  100/numărul total de colonii la mărtoare].

Din tabel reiese că la pH 7 și 8 nici unul dintre conservanți, respectiv amestecuri de conservanți nu a distrus bacteriile test în primele 24 de ore. Candida a fost mult mai sensibilă față de conservanți. Se remarcă activitatea net superioară a amestecurilor tricomponente (la amestecul „9“ eficacitate de 92,6<sup>0/0</sup>, iar la „12“ 93,9<sup>0/0</sup>). Dintre asocierile de doi componente, nipaesterii în raport de 7,5 p Nipagin M și 2,5 p Nipasol, s-au dovedit mai eficace (eficacitate 87,9<sup>0/0</sup>) față de raportul 9+1 (eficacitate 73,8<sup>0/0</sup>). Dintre amestecurile bicomponente acidul sorbic+Nipagin M (amestecul „7“) a mai arătat o eficacitate mai pronunțată (80,5<sup>0/0</sup>).

În concluzie, considerăm că pentru utilizare generală, amestecurile de acid benzoic — Nipagin M — Nipasol (0,1+0,1+0,03<sup>0/0</sup>), respectiv acid sorbic — Nipagin M — Nipasol (0,1+0,1+0,03<sup>0/0</sup>) sînt mult mai corespunzătoare decît conservanții folosiți singuri sau amestecurile bicomponente.

### Bibliografie

1. Adam L., Szánthó E., Gered I., Horváth G.: Revista medicală (1974), 20, 209; 2. Aye Rolf-Dieter: Pharm. Ztg. (1978), 123, 419; 3. Bahal C. K., Kostenbauder H. B.: J. Pharm. Sci. (1964), 53, 1027; 4. Benzinger F., Honjec-Mihaljinac S.: Sci. Pharm. (1970), 38, 107; 5. Billie W., Durwand E.: J. Pharm. Sci. (1963), 52, 769; 6. Boteanu Silvia, Gheorghiu Elena: Practica farm., noiembrie 1979, 13; 7. Bühlmann X. și colab.: Pharm. Acta Helv. (1971), 46, 321; 8. Csath-Stinzel Zamfira, Horváth G.: Revista medicală (1972), 18, 337; 9. Csath-Stinzel Zamfira și colab.: Revista medicală (1982), 28, 72; 10. De Luca P., Kostenbauder H. B.: J. Amer. Pharm. Ass. Sci.-Ed. (1960), 49, 430; 11. Devleeschouwe M. și colab.: Pharm. Acta Helv.

Tabelul nr. 1

Nr. conserv.	Zile	Numărul convențional de colonii la 1—7—14 zile												Nr. total de col.	Efica- citatea %				
		Staph. aur				Esch. coli				Pseud. aer.						Candida a.			
		pH=3	5	7	8	3	5	7	8	3	5	7	8			3	5	7	8
1.	1	0	1	1	3	0	2	4	4	0	0	4	4	0	1	1	1	81	45,6
	7	0	0	4	0	0	0	4	4	0	0	4	4	0	0	4	3		
	14	0	0	4	0	0	0	4	4	0	0	4	4	0	0	4	4		
2.	1	0	2	2	2	0	2	2	4	0	1	2	4	0	1	1	1	93	37,6
	7	0	0	2	4	0	2	4	4	0	4	4	4	0	0	3	3		
	14	0	0	2	4	0	1	4	4	0	4	4	4	0	0	4	4		
3.	1	0	2	2	2	3	3	3	3	0	1	1	2	0	0	0	0	35	76,5
	7	0	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	4	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0		
4.	1	0	0	2	2	3	3	4	4	0	2	4	4	0	0	0	0	69	53,7
	7	0	0	0	2	0	0	3	4	0	4	4	4	0	0	0	0		
	14	0	0	0	3	0	0	1	4	0	4	4	4	0	0	0	0		
5.	1	0	0	2	3	0	0	1	3	1	1	1	2	1	0	0	0	18	87,9
	7	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
6.	1	0	1	3	3	0	2	2	3	0	2	1	3	1	1	1	0	39	73,8
	7	0	1	2	2	0	0	2	3	0	1	3	2	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
7.	1	0	1	2	2	0	1	2	3	0	0	1	2	0	0	0	0	29	80,5
	7	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	4	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0		
8.	1	0	0	2	2	0	3	4	4	0	2	4	4	0	0	0	0	67	55,0
	7	0	0	2	1	0	2	4	4	0	4	4	4	0	0	0	0		
	14	0	0	1	0	0	0	4	4	0	0	4	4	0	0	0	0		
9.	1	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	0	0	11	92,6
	7	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
10.	1	0	1	2	2	0	2	4	4	0	0	4	4	0	0	0	0	59	60,4
	7	0	0	0	4	0	0	4	4	0	0	4	3	0	0	0	0		
	14	0	0	0	4	0	0	1	4	0	0	4	4	0	0	0	0		
11.	1	0	0	1	1	0	0	3	3	0	3	4	3	0	0	0	1	52	65,1
	7	0	0	2	2	0	0	1	4	0	4	4	4	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	4	0	0	0	0		
12.	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	9	93,9
	7	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
M.	1	2	3	3	3	3	4	4	4	1	4	4	4	2	1	2	1	149	—
	7	0	2	4	4	3	4	4	4	1	4	4	4	4	4	4	4		
	14	0	0	4	4	2	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4	4		

Legendă: 0 = steril, 1 = 1—10 colonii, 2 = 11—100 col., 3 = 101—1000 col., 4 = nenumăr.

(1979), 54, 370; 12. *Erhardt J.*: *Gyógyszerészet* (1973), 17, 377; 13. *Hirsch J. I.*: *Amer. J. Hosp. Pharm.* (1969), 26, 625; 14. *Ionescu Stoian P. și colab.*: *Farmacia* (1969), 17, 583 și (1970), 18, 705; 15. *Ionescu Stoian P., Baron Olga, Bottesch Sanda*: *Farmacia* (1970), 18, 71; 16. *Leuk V., Schmidt B.*: *Arzneimittel Forsch* (1969), 19, 572; 17. *Parker M. S.*: *Soap, Perfumery and Cosmetics* (1973), 223 și 291; 18. *Pețeanu Emanuela și colab.*: *Rev. med.* (1972), 18, 91 și *Practica farm.* (1970), nr. 4, 77; 19. *Polman M. C.*: *Labo-pharma* (1976), 255, 577; 20. *Savopol E.*: *Practica farm.*, iunie 1979, 87; 21. *Speiser P.*: *Pharm. Acta Helv.* (1968), 43, 193; 22. *Szánthó E. și colab.*: *Rev. med.* (1970), 16, 199 și *Farmacia* (1971), 19, 115; 23. *Zembrzuska E.*: *Farm. Pol.* (1978), 34, 233.

*L. Adam, Eva Szánthó, Iolanda Csegedi, Zsuzsanna Csath-Stinzel, M. Giurgiu, L. Domokos, Doina Bilca, I. Formanék*

### CONTRIBUTIONS TO THE SELECTION OF PRESERVATIVES FOR LIQUID PHARMACEUTICAL FORMS OF INTERNAL USE

The authors have studied the antimicrobial action of 8 bi- and tricomponent mixtures of nipaesters and organic acids, as well as that of 4 preservatives used as such, at various pH values. As test microorganisms they used *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. By means of these microorganisms they seeded solutions of 1% peptone containing preservatives and their mixtures in study. Four series of samples were tested, the pH values being 3—5—7—8.

The results show the infallible superiority of the mixtures made up of sorbic acid — Nipagin M — Nipasol and benzoic acid — Nipagin M — Nipasol as compared with the preservatives used by themselves, as well as with the bicomponent mixtures.