

УДК 615.453.3;615.331

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ СТРУКТУР НА БАЗЕ ПРОБИОТИКОВ

Корочинский А.В., Верниковский В.В., Степанова Э.Ф.

ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Пятигорск

Рассмотрена современная классификация и номенклатура пробиотических средств. Проведен анализ по составу и форме выпуска препаратов, представленных на российском фармацевтическом рынке. Даны рекомендации по оптимальному дозированию препаратов пробиотиков и повышению их устойчивости с помощью метода иммобилизации.

Ключевые слова: иммобилизация клеток, альгинатные гранулы, технологические свойства, модификация хитозаном, распадаемость, кишечнорастворимые лекарственные формы

Человек и окружающая среда представляют единую экологическую систему, находящуюся в состоянии биологического равновесия. В процессе эволюции произошел отбор определенных видов микроорганизмов, сформировавших нормальную микрофлору. Микробы-симбионты, входящие в состав экосистемы макроорганизма принимают участие в регуляции и поддержании гомеостаза, обеспечивая колонизационную резистентность слизистых оболочек и предотвращая адгезию, размножение и транслокацию патогенных микробных клеток и токсинов во внутреннюю среду организма.

Для полного здоровья характерно состояние биологического равновесия между микрофлорой и клетками человеческого организма. Однако, под воздействием неблагоприятных факторов различной природы, такое равновесие может подвергаться частым нарушениям в качественном и количественном отношении.

Термин «дисбактериоз», введенный в 1916 году А. Nissle, характеризует патологическое состояние кишечной микрофлоры, проявляющееся в выраженном сдвиге видового и количественного соотношения микробов. Такое состояние, приводящее к подавлению нормальной микрофлоры и размножению условно патогенных бактерий, является пусковым механизмом для расстройства обменных

процессов, развития аллергических реакций и возникновения различных соматических заболеваний.

Восстановление нормального кишечного биоценоза является важнейшей задачей в терапии больных с заболеваниями, протекающими на фоне дисбактериоза. Традиционное лечение больных предусматривает предварительную деконтаминацию кишечника при помощи противомикробных средств, нередко вызывающих различные побочные эффекты. В большинстве случаев возможна эффективная и безопасная деконтаминация кишечника от патогенных и условно-патогенных бактерий путем замены противомикробных средств на более безопасные и высокоэффективные бактериальные препараты.

С целью нормализации микрофлоры рекомендуется применять препараты содержащие живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения, а также продукты различной природы, стимулирующие рост и активность микроорганизмов облигатной микрофлоры.

Идея корректирующего влияния на внутреннюю среду организма человека путем целенаправленного изменения состава микрофлоры принадлежит основоположнику отечественной и мировой микробиологии И.И. Мечникову (1908). Предложенный им метод энтерального введения живых культур молочнокислых бакте-

рий в качестве антагонистов гнилостных микробов явился фундаментом современных работ по созданию биопрепаратов.

В настоящее время пробиотические препараты разделяют на следующие группы:

Пробиотики – содержат живые микроорганизмы, оказывающие положительный результат на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма, посредством стабилизации и оптимизации нормальной микрофлоры.

Пребиотики – препараты микробного и немикробного происхождения, спо-

собные позитивно влиять на организм хозяина, стимулируя рост и метаболическую активность нормальной микрофлоры.

Синбиотики – комбинация пробиотиков и пребиотиков [1, 2].

Был проведен анализ по составу и форме выпуска препаратов, представленных на российском фармацевтическом рынке. Нами было отобрано 58 пробиотических средств, содержащих 29 видов микроорганизмов различной формы выпуска.

Таблица 1.

Культуры, входящие в состав пробиотических средств

Культуры бактерий				
Бифидобактерии	Лактобактерии	Колибактерии	Бациллы	Прочие микроорганизмы
Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium longum Bifidobacterium lactis Bifidobacterium infantis Bifidobacterium breve Bifidobacterium adolescentis	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus bulgaricus Lactobacillus plantarum Lactobacillus fermentum Lactobacillus rhamnosus Lactobacillus gasseri Lactobacillus GG Lactobacillus delbrueckii	Escherichia coli	Bacillus subtilis Bacillus licheniformis	Enterococcus faecium Streptococcus faecalis Aerococcus viridans Saccharomyces Boulardii Candida albicans Influenzinum-Nosode микрোকкок катаральный Staphylococcus alba Staphylococcus aureus Streptococcus pneumoniae Streptococcus pyogenes Streptococcus viridans

Таблица 2.

Формы выпуска пробиотических средств

Растворы	Суспензии	Сиропы	Лиофилизат			Суппозитории
			Порошок	Таблетки	Капсулы	
для инъекций	для приема внутрь	для приема внутрь	в саше	жевательные	Желатиновые	вагинальные
для приема внутрь для наружного применения	для наружного применения		во флаконах	кишечно-растворимые	кишечно-растворимые	ректальные

Организация массового производства эубиотиков в виде порошков, таблеток, капсул, отчасти решает на сегодняшний день одну из важнейших задач обеспечения практического здравоохранения пробиотическими препаратами, хотя и требует решения ряда вопросов.

Дозирование препаратов варьирует в пределах от 1×10^7 до 1×10^{10} КОЕ. Внесение столь высокого количества стартовых культур связано с негативным воздействием губительных факторов различного генеза. В данном случае представляется актуальным усовершенствование технологии производства, которое должно затронуть

вопрос обеспечения благоприятных условий для бактерий при их хранении и прохождении желудочного барьера.[3] Решение этого вопроса можно осуществить посредством использования адсорбционной и пространственной иммобилизации бактерий в мягких условиях, что позволит сохранить их жизнеспособность и осуществить должный терапевтический эффект.

Проблема использования ферментативной активности иммобилизованных микроорганизмов стоит относительно давно и не потеряла актуальности в настоящее время. Публикации об иммобилизации клеток микроорганизмов появились в 70-х годах XX века. Наибольшее количество исследований по иммобилизации клеток микроорганизмов и первое промышленное применение было осуществлено японскими исследователями.

Иммобилизация по своей сути заключается в фиксировании клеток микроорганизмов в некоторой фазе, отделенной от другой, с возможностью межфазного взаимодействия. Физико-химические принципы, лежащие в основе, позволяют закрепить структуры таким образом, чтобы сохранялась их активность в течение длительного времени, не подвергаясь структурным изменениям. Иммобилизованные клетки имеют ряд преимуществ перед свободными клетками и иммобилизованными ферментами в большей активности и стабильности, а также с экономической стороны. Иммобилизация позволяет создать непрерывные автоматизированные процессы, дает возможность длительно функционировать полиферментным системам, закрытым от экзогенных факторов.[4, 5]

Для иммобилизации клеток микроорганизмов могут быть использованы вещества органической (хитин, древесина, целлюлоза) или неорганической (глины, песок, кремнеземы, угли) природы, искусственные неорганические носители (углеродные материалы, металлические сплавы, керамика) и синтетические полимеры (полиэтилен, нейлон, полиуретаны), а также природные биodeградируемые полимеры (пектин, альгинат, хитозан, каррагинан, фукоидан) [6, 7].

Распространенные методы иммобилизации клеток можно разделить на три

группы: связывание на твердом носителе, включение в пространственную структуру носителя и иммобилизация с использованием мембранной технологии [8].

В случае иммобилизации живых клеток следует принимать во внимание возможное вредное влияние используемых агентов на жизнеспособность клеток, а также создание всех условий для поддержания этой жизнеспособности и метаболической активности. Помимо этого, химическая модификация, которой подвергаются клетки в процессе иммобилизации, может нежелательным образом изменять их свойства. Таким образом, положительные стороны при использовании мягких условий иммобилизации, говорят о целесообразности практического применения.

Иммобилизация путем адсорбции и включение в пространственную структуру биodeградируемых полимеров наиболее мягкой и предпочтительной для живых клеток способ фиксации. Клетки можно включать в полимерную сетку путем проведения полимеризации или реакции поперечного сшивания геля в присутствии клеток. Поскольку размеры клеток относительно велики, то имеет смысл использование носителей с низкой степенью сшивки для сохранения нужных диффузионных свойств. Также представляется возможным проведение модификации иммобилизованных форм природными полимерами, создающими защиту от разрушающих факторов среды.

На сегодняшний день в качестве усовершенствования пробиотических препаратов используется либо адсорбция на частицах активированного угля, либо кишечнорастворимые таблетки или капсулы (табл. 3). Поэтому этот вопрос не теряет актуальности и привлекает к себе внимание.

Биотехнологические процессы являются ярким примером высоких технологий, с которыми связывают перспективы развития многих производств. Иммобилизацию следует рассматривать как процесс обеспечения сохранности, стабильности и высокой биологической доступности биотехнологического продукта. Несомненно, направления биотехнологии, связанные с иммобилизацией клеток, будут развиваться, расширяя возможности применения

микроорганизмов в медицине, промышленности среды. в промышленном производстве и защите окружающей

Таблица 3.

Усовершенствованные пробиотики

Виды усовершенствования					
Адсорбционная иммобилизация		Ацидорезистентная оболочка			
Порошок		Таблетки		Капсулы	
Название	состав	Название	Состав	Название	состав
Бифидум бактерин форте	<i>B. bifidum</i> сорбированные на активированном угле, лактоза	БИОН 3	<i>L. gasseri</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , глюкоза, витамины макро-, микро-элементы	Бифиформ	<i>B. longum</i> , <i>E. faecium</i> , молочно кислая закваска, лактулоза
Пробифор	<i>B. bifidum</i> , сорбированные на активированном угле, лактоза			Примадофилус	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i>
Флорин форте	<i>B. bifidum</i> , сорбированные на активированном угле, лактоза			Примадофилус Бифидус	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i>
				Примадофилус Джуниор	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> аскорбиновая кислота

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зрячкин Н.И. Новый подход к классификации пребиотиков, пробиотиков и синбиотиков; // Фарматека 2007, №2. С. 58.
2. Бондаренко В.М. По поводу нового подхода к классификации фармакопейных лекарственных пробиотических препаратов, биологически активных добавок к пище и продуктов функционального питания // Фарматека. 2007. №2. С. 62.
3. Ананьева Н.В. Совершенствование технологии пробиотических культур прямого внесения для молочных продуктов // автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук. ГОУ ВПО Московский государственный университет прикладной биотехнологии. 2007.
4. Mortazavian A. // Iranian Journ. of Biotechnology – 2007 – Vol. 5, №1. – P. 3.
5. Демаков В.А., Максимова Ю.Г., Максимов А.Ю. Иммобилизация клеток микроорганизмов: биотехнологические аспекты // Биотехнология. 2008. №2. С. 30.
6. Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е., Хасина Э.И., Кропотов А.В., Коленченко Е.А., Сергущенко И.С., Хотимченко М.Ю., Ковалев В.В. Фармакология некрахмальных полисахаридов // Вестник ДВО РАН. 2005. № 1 С.72.
7. Nam Sun Wang Cell Immobilization with calcium alginate // Department of Chemical & Biomolecular Engineering University of Maryland College Park.
8. Степанова Э.Ф. Иммобилизация ферментов и других биологически активных веществ // Учебное пособие, Пятигорск, 2001.

**INVESTIGATION OF PROBIOTICS BASED IMMOBILIZED STRUCTURES
FORMATION POSSIBILITY**

Korochinsky A.V., Vernikovskiy V.V., Stepanova E.F.
Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk

Modern classification and the nomenclature of probiotic's preparations were considered. The analysis on structure and the form of release of the preparations presented in the Russia's pharmaceutical market was carried out. Recommendations about optimum dispensing of probiotic's preparations and to increase of their stability by means of a method of immobilization were made.

Keywords: cell's immobilization, alginate granules, technological properties, modification by chitozane, degradation, enterosoluble medicinal forms

УДК: 615.453.3.014.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ГРАНУЛ «GLYSOCAL» И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Мехралиева С.Д.

Азербайджанский медицинский университет, Баку

На основе сухого экстракта полученного из растительного сбора (солодка голая, софора японская, календула лекарственная) были приготовлены три композиции в виде гранул, которые отличаются количеством склеивающего вещества – прополиса. Выбор вспомогательных веществ был подтвержден и обоснован в опытах *in vitro*, *in vivo*, *in situ*.

Ключевые слова: гастроэнтерологические заболевания, гранулы, корень солодки, биофармация, вспомогательные вещества, рутин

В настоящее время актуальной проблемой фармацевтической технологии является изготовление фитогранул содержащих экстракты из сбора растений и используемых для профилактики и лечения гастроэнтерологических заболеваний.

Методы исследования. Была разработана технология получения гранул из очищенного экстракта, фитосбора «Glysocal», состав которого богат флаваноидами и три-терпеновыми гликозидами [1]. При изготовлении гранул вспомогательные вещества надо было выбрать так, чтобы они усиливали ранозаживляющий эффект главного действующего компонента. С этой целью было целесообразно использовать природный полимер – хитозан [4, 6]. Далее мы использовали как склеивающе-связывающее средство - экстракт прополиса, так как экстракт прополиса обладает высокой адгезивностью, а также имеет богатый состав: флавоноиды и прочие вещества широко используемые при лечении язвенной болезни ЖКТ [5, 7]. При приготовлении гранул были использованы различные количества экстракта прополиса, состав гранул был сконструирован в трех композициях. 1 композиция: сумма БАВ фитосбора «Glysocal» -3,0 г, магний карбонат основной - 1,5 г, экстракт прополиса - 0,5 г, хитозан - 7,0г, аэросил 0,5 г, спирт этиловый 70%-10мл, сахар - 77,5 г; 2- композиция: сумма БАВ из фитосбора «Glysocal» - 3,0 г, магния карбонат основной - 1,5 г, экстракт прополиса - 1,5 г, хитозан - 7,0 г, аэросил 0,5 г, спирт этиловый 70%-10мл, сахар - 76,5 г; 3- композиция: сумма БАВ из фитосбора «Glysocal»-3,0г, магния карбонат ос-

новной - 1,5 г, экстракт прополиса - 2,5 г, хитозан - 7,0 г, аэросил 0,5 г, спирт этиловый 70%-10мл, сахар - 75,5 г.

Были установлены некоторые технологические особенности фитогранул «Glysocal»: определены органолептические свойства, количество БАВ в их составе, влажность, время распадаемости. Проведенный анализ выявил, что используемый экстракт прополиса в зависимости от количества действует по-разному на устойчивость гранул. Гранулы приготовленные из 1 композиции, которая содержит 0,5% экстракт прополиса распадаются соответственно в течении 5 и 7 минут (табл. 1).

Гранулы, приготовленные из 1 и 3 композиций распадаются в течение соответственно $5,2 \pm 0,037$ и $15,0 \pm 0,55$ минут (это в искусственном соке), в кишечном соке в течение $7,0 \pm 0,45$ и $19,2 \pm 0,58$ минут. При такой разнице гидрофобная природа прополиса имеет решающее значение. Из-за повышения количества прополиса в составе гранул усиливается гидрофобность массы, и поэтому гранулы, приготовленные из 3-й композиции, распадаются в течение длительного времени. В результате проведенных исследований было установлено, что гранулы, приготовленные из 2 композиции [3], в большей степени отвечают требованиям, предъявляемым к ним. При проведении теста «растворение» (прибор «Вращающаяся корзинка», скорость вращения 200 об/мин, среды растворения 1000 мл) 2 композиции определяли оптимальные условия: среда pH-7.8, объем среды растворения 500 мл, скорость вращения прибора -