

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 577.182.24

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2024.3.38>

Н. И. Михайлова, Р. И. Лукашов

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКТОВ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ ЦЕФТРИАКСОНА НАТРИЯ

Белорусский государственный медицинский университет,
г. Минск, Республика Беларусь

*В настоящей статье представлены результаты изучения антимикробной активности исходной фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия и продуктов ее химической деструкции методом диффузии в агар на плотной питательной среде. Для химической деструкции использовались следующие реактивы: гидроксид натрия разведенный, кислота хлористоводородная разведенная, реактив Фентона, персульфат калия. При деструкции натрия гидроксидом разведенным и кислотой хлористоводородной разведенной образцы выдерживали при комнатной температуре и нагревали в течение 6 часов при температурах 40 °С, 80 °С, 95 °С. В ходе химической деструкции цефтриаксона натрия гидроксидом натрия разведенным при температуре 80 °С и 95 °С, кислотой хлористоводородной разведенной при всех температурных режимах, реактивом Фентона и персульфатом калия отмечалось отсутствие антимикробной активности в отношении тест-культуры *Staphylococcus aureus*. Зона ингибирования роста микроорганизмов отсутствовала и сопоставима с контрольным раствором воды очищенной. Окисление цефтриаксона натрия раствором пероксида водорода 30% нецелесообразно ввиду высокой противомикробной активности самого реактива.*

Ключевые слова: химическая деструкция, цефтриаксон натрия, антимикробная активность, обезвреживание, фармацевтические отходы.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные препараты с истекшим сроком годности, утилизируемые вместе с бытовыми отходами, после их попадания на полигоны захоронения твердых коммунальных отходов под воздействием атмосферных осадков способны проникать в почвенный слой и грунтовые воды, что может вызывать загрязнение природных экосистем данной категорией отходов. Особую опасность это приобретает при загрязнении почвы и водоемов антибактериальными лекарственными препаратами ввиду повсеместно растущей устойчивости к ним микроорганизмов. В связи с этим актуальной задачей является разработка новых подходов к деградации антибактериальных лекарственных препаратов с получением продуктов, лишенных исходной антимикробной активности [1–3].

Во многих странах мира, в том числе в Республике Беларусь, наиболее распространенным способом обезвреживания лекарственных препаратов вне зависимости

от фармакотерапевтической группы является их сжигание.

2 сентября 2024 г. утверждено постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь № 137/44 «О порядке обращения с медицинскими отходами» [4].

Согласно этому нормативному правовому акту, химиотерапевтические лекарственные препараты подлежат обезвреживанию методом термической утилизации (сжигания) или аппаратной обработкой, если в инструкции по медицинскому применению (листке-вкладыше) производителя не указаны иные способы. В случае наличия специальных указаний в инструкции производителя обезвреживание лекарственного препарата осуществляется в соответствии с этими рекомендациями. Обращение с прочими фармацевтическими отходами, а также с первичной упаковкой, оставшейся после использования лекарственного средства, производится с соблю-

дением технических требований, установленных для обращения с коммунальными отходами [4].

Согласно требованиям постановления Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 22.11.2002 № 81 «Об утверждении инструкции о правилах и методах обезвреживания отходов лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» [5], сжигание фармацевтических отходов осуществляют при температуре от 850 до 1200 °С. Процесс сжигания требует строгого контроля за показателями выбросов в атмосферу продуктов сгорания, включая канцерогенные соединения, образующиеся при термической обработке отходов. Перспективной альтернативой высокотемпературной деструкции лекарственных препаратов является химическое обезвреживание фармакофора, поскольку данный метод обеспечивает возможность управления реакционными процессами и мониторинга состава продуктов деструкции, образующихся в ходе реакции. Согласно вышеназванному постановлению, отходы, образовавшиеся в результате уничтожения антибиотиков и аналогичных противомикробных средств, растворяют в воде, добавляют 10-процентный раствор натрия гидроксида в количестве 10% от объема раствора обезвреживаемых отходов, выдерживают в течение 2 недель, после чего нейтрализуют до pH 5,0–7,0 [5]. Однако многие антибактериальные лекарственные средства устойчивы в щелочной среде и не взаимодействуют с гидроксидом натрия, что делает данный подход неэффективным и неуниверсальным.

В свете того, что наибольший риск попадания антибактериальных лекарственных препаратов в окружающую среду влечет рост и развитие антибиотикорезистентности, контроль отсутствия у продуктов деструкции антимикробной активности является одним из ключевых критериев выбора метода их химической деструкции.

Цель исследования – изучить антимикробную активность продуктов химической деструкции антибактериальных лекарственных средств на примере фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом анализа служила фармацевтическая субстанция цефтриаксона натрия

(производитель – Livzon Syntpharm Co., Ltd. (Zhuhai FTZ), Китай).

Цефтриаксон натрия – антибактериальный лекарственный препарат группы цефалоспоринов III поколения, широко применяемый в стационарах Республики Беларусь. Субстанция представляет собой желтоватый, кристаллический, слегка гигроскопичный порошок, легко растворим в воде, легко растворим в метаноле, очень мало растворим в этаноле.

Проведенные ранее исследования [6] показали, что разрушение исходной структуры цефтриаксона натрия отмечается при его химической деструкции растворами гидроксида натрия разведенного, кислоты хлористоводородной разведенной, персульфата калия, пероксида водорода 30%, реактивом Фентона (30% пероксида водорода, 5% раствора сульфата железа). В качестве растворителя в ходе проведения деструкции выступала вода очищенная.

Исследование антимикробной активности продуктов деструкции осуществляли на 14-е сутки после проведения химической деструкции цефтриаксона натрия с использованием метода диффузии в агар на плотной питательной среде. В качестве тест-культуры использовали тест-штамм *Staphylococcus aureus* (штамм ATCC 25923) ввиду его выраженной чувствительности к цефтриаксону натрия [7].

В качестве питательной среды использовали набор реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая» (агар Эндо-ГРМ), в состав которого входили панкреатический гидролизат рыбной муки, дрожжевой экстракт, натрия хлорид, Д-(+)-лактоза, натрия сульфит безводный, натрия фосфат двузамещенный 12-водный, фуксин основной, агар. Для приготовления питательной среды вышеуказанную смесь размешивали в количестве 36,5 г на 1 литр воды, кипятили 2–3 минуты до полного расплавления агара, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, снова доводили до кипения, охлаждали до температуры 45–50 °С и разливали в стерильные чашки Петри слоем 5 мм. После застывания среды чашки подсушивали при температуре 37 °С в течение 60 минут.

Бактериальный тест-штамм *Staphylococcus aureus* (штамм ATCC 25923) выращивали отдельно на агаре на основе гидролизата казеина и соевых бобов при

температуре 30 °С в течение 24 часов. Для приготовления суспензии использовали раствор натрия хлорида с рН 7,0. Готовая рабочая суспензия *Staphylococcus aureus* имела мутность 2,7 единиц Мак-Фарланда, контроль мутности осуществляли по Денситометру DEN-1 Biosan.

Готовую свежеприготовленную рабочую суспензию *Staphylococcus aureus* наносили на поверхность высушенных чашек Петри с питательной средой в объеме 1 мл, после впитывания жидкости в питательной среде прорезали лунки диаметром 5 мм, в которые вносили по 100 мкл испытуемых образцов. В каждой чашке Петри в центральную лунку вносили воду очищенную для положительного контроля роста культуры *Staphylococcus aureus*. Чашки Петри с испытуемыми образцами выдерживали в течение 1 часа для впитывания образцов в толщу питательной среды, после чего инкубировали при температуре 30 °С в течение 24 часов [8].

Оценку эффективности химической деструкции осуществляли по уменьшению диаметра зоны ингибирования роста тест-культуры *Staphylococcus aureus* (штамм АТСС 25923), наблюдаемого для образцов, подвергнутых деструкции, в сравнении с образцами исходного раствора фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия, а также для образцов контрольных растворов натрия гидроксида разведенного, кислоты хлористоводородной разведенной, реактива Фентона, персульфата калия, пероксида водорода 30%. Образцы фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия, подвергнутые химической деструкции, до начала исследования предварительно разводили до содержания цефтриаксона натрия 0,05%. Избыток гидроксида натрия предварительно нейтрализовали кислотой хлористоводородной разведенной по индикатору фенолфталеину, избыток кислоты хлористоводородной нейтрализовали натрия гидроксидом разведенным по индикатору метиловому оранжевому.

Метод химической деструкции считали перспективным, если зона ингибирования роста культуры *Staphylococcus aureus* была сопоставима с таковой у воды очищенной и контрольного образца реактива для химической деструкции.

Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Microsoft Excel. Все исследования выполняли в 3 повторениях ($n = 3$, $P = 95\%$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

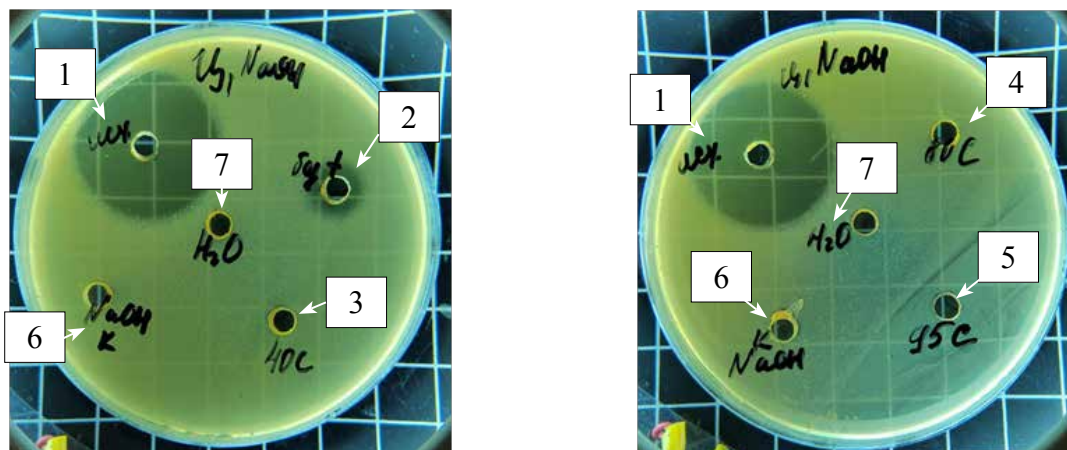
Изучение антимикробной активности продуктов деструкции цефтриаксона натрия раствором натрия гидроксида разведенного (рисунок 1) показало отсутствие антимикробных свойств у образцов, выдержанных 6 часов при температуре 40 °С, 80 °С, 95 °С. Результаты сопоставимы с контрольным образцом – водой очищенной и раствором натрия гидроксида разведенного после нейтрализации по фенолфталеину. Антимикробная активность образца, выдерживаемого с раствором натрия гидроксида разведенного при комнатной температуре, снизилась на 66,7% в сравнении с исходным раствором цефтриаксона натрия, однако полностью не была утрачена.

На рисунке 2 показаны результаты изучения антимикробной активности продуктов деструкции цефтриаксона натрия кислотой хлористоводородной разведенной при комнатной температуре и после нагревания в течение 6 часов при температуре 40 °С, 80 °С, 95 °С. При всех указанных температурных режимах отмечалась полная утрата испытуемым образцом антимикробных свойств.

Результаты исследования антимикробной активности продуктов деструкции цефтриаксона натрия реактивом Фентона также указывают на полную утрату антибактериальной активности исходного соединения в отношении тест-культуры *Staphylococcus aureus* (рисунок 3).

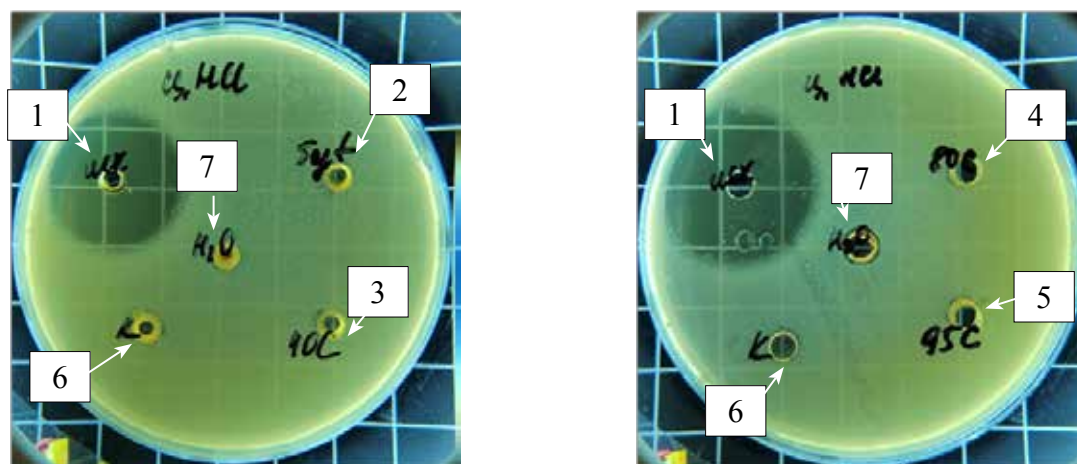
На рисунке 4 представлены результаты изучения антимикробной активности продуктов химической деструкции цефтриаксона натрия в присутствии персульфата калия. Образовавшиеся соединения не обладают антимикробной активностью, зона ингибирования роста тест-культуры *Staphylococcus aureus* соответствует зоне контрольного образца воды очищенной.

Изучение антимикробной активности продуктов деструкции цефтриаксона натрия пероксидом водорода 30% показало, что исходный реактив обладает более выраженной антимикробной активностью в отношении тест-культуры *Staphylococcus aureus* в сравнении с исходным антибактериальным лекарственным препаратом (рисунок 5). Зона ингибирования роста микроорганизмов, наблюдаемая для образца после деструкции пероксидом водо-



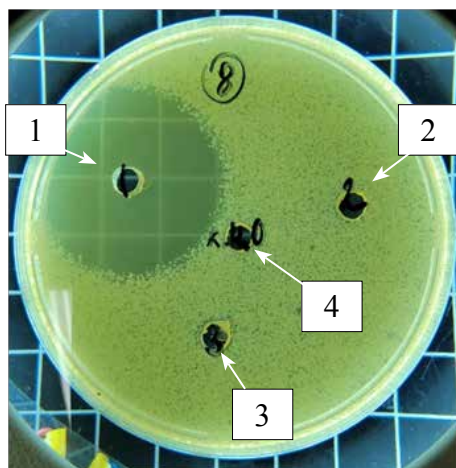
1 – Исходный свежеприготовленный раствор цефтриаксона натрия. 2 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции натрия гидроксидом разведенным при комнатной температуре, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 3 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции натрия гидроксидом разведенным при температуре 40 °С в течение 6 часов, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 4 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции натрия гидроксидом разведенным при температуре 80 °С в течение 6 часов, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 5 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции натрия гидроксидом разведенным при температуре 95 °С в течение 6 часов, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 6 – Контрольный раствор натрия гидроксида разведенного после нейтрализации. 7 – Контрольный образец воды очищенной.

Рисунок 1. – Зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* продуктами деструкции цефтриаксона натрия, образовавшимися под действием раствора натрия гидроксида разведенного



1 – Исходный свежеприготовленный раствор цефтриаксона натрия. 2 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции кислотой хлористоводородной разведенной при температуре 20 °С, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 3 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции кислотой хлористоводородной разведенной при температуре 40 °С в течение 6 часов, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 4 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции кислотой хлористоводородной разведенной при температуре 80 °С в течение 6 часов, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 5 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции кислотой хлористоводородной разведенной при температуре 95 °С в течение 6 часов, спустя 14 суток экспозиции реакционной смеси. 6 – Контрольный раствор кислоты хлористоводородной разведенной после нейтрализации. 7 – Контрольный образец воды очищенной.

Рисунок 2. – Зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* продуктами деструкции цефтриаксона натрия, образовавшимися под действием раствора кислоты хлористоводородной разведенной

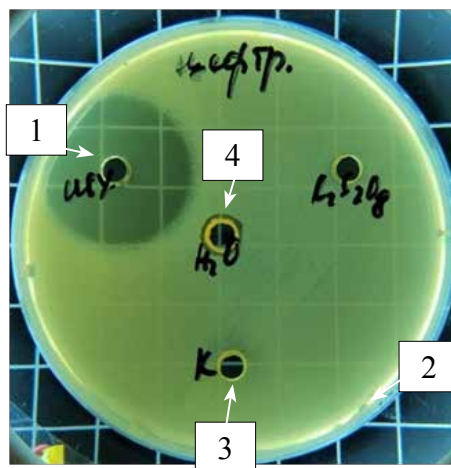


1 – Исходный раствор цефтриаксона натрия. 2 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции реактивом Фентона. 3 – Контрольный раствор реактива Фентона. 4 – Контрольный образец воды очищенной.

Рисунок 3. – Зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* продуктами деструкции цефтриаксона натрия, образовавшимися под действием реактива Фентона

рода 30%, имела идентичный размер с зоной контрольного образца раствора пероксида водорода 30% и на 60% превышала зону ингибирования роста *Staphylococcus aureus* цефтриаксоном натрия.

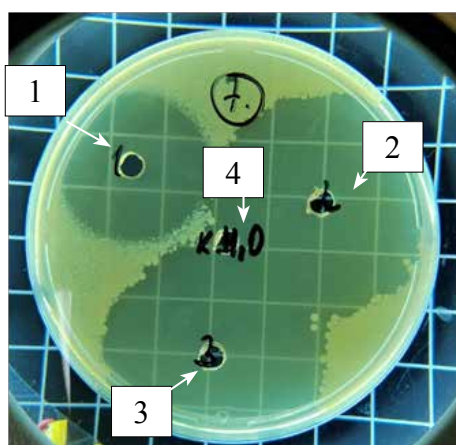
Результаты исследования антимикроб-



1 – Исходный раствор цефтриаксона натрия. 2 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции персульфатом калия. 3 – Контрольный раствор персульфата калия. 4 – Контрольный образец воды очищенной.

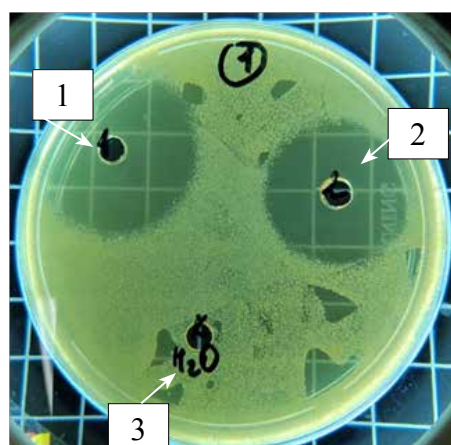
Рисунок 4. – Зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* продуктами деструкции цефтриаксона натрия, образовавшимися под действием персульфата калия

ной активности цефтриаксона натрия после его гидролиза в водном растворе при комнатной температуре представлены на рисунке 6. Без добавления реактивов антимикробная активность в течение 14 суток сократилась лишь на 15,1%.



1 – Исходный раствор цефтриаксона натрия. 2 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции пероксидом водорода 30%. 3 – Контрольный раствор пероксида водорода 30%. 4 – Контрольный образец воды очищенной.

Рисунок 5. – Зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* продуктами деструкции цефтриаксона, образовавшимися под действием пероксида водорода 30%



1 – Исходный раствор цефтриаксона натрия. 2 – Образец цефтриаксона натрия после деструкции в водном растворе без добавления реактивов. 3 – Контрольный образец воды очищенной.

Рисунок 6. – Зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* продуктами деструкции, образовавшимися при гидролизе в водном растворе при комнатной температуре

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что антимикробная активность цефтриаксона натрия утрачивается после его деструкции гидроксидом натрия разведенным при температуре 40 °С и выше, кислотой хлористоводородной разведенной при комнатной температуре и при нагревании, реактивом Фентона, персульфатом калия. Во всех случаях зона ингибирования роста культуры *Staphylococcus aureus* отсутствовала, так же как у контрольного образца воды очищенной и реактивов, используемых для химической деструкции.

Антимикробная активность продуктов деструкции цефтриаксона натрия, образовавшихся под действием пероксида водорода 30%, аналогична активности контрольного раствора пероксида водорода 30% и превышала зону ингибирования роста культуры *Staphylococcus aureus* исходным свежеприготовленным раствором цефтриаксона натрия. Данный подход к обезвреживанию цефтриаксона натрия целесообразен ввиду необходимости разработки дополнительных способов нейтрализации пероксида водорода в реакционной смеси.

Также показано, что при гидролизе цефтриаксона натрия без добавления реактивов и нагревания антимикробная активность сохраняется.

Перспективой дальнейших исследований является изучение структуры образовавшихся продуктов деструкции и их безопасности.

SUMMARY

N. I. Mikhailava, R. I. Lukashov
STUDYING ANTIMICROBIAL ACTIVITY
OF SODIUM CEFTRIAXONE CHEMICAL
DESTRUCTION PRODUCTS

This article presents the results of studying antimicrobial activity of the original pharmaceutical substance sodium ceftriaxone and the products of its chemical destruction by diffusion into agar on dense nutrient medium. The following reagents were used for chemical destruction: diluted sodium hydroxide, diluted hydrochloric acid, Fenton's reagent, potassium persulfate. During sodium destruction with diluted sodium hydroxide and diluted hydrochloric acid the samples were kept at room temperature and heated

for 6 hours at temperatures of 40 °С, 80 °С, 95 °С. During chemical destruction of sodium ceftriaxone with sodium hydroxide diluted at 80 °С and 95 °С and hydrochloric acid diluted in all temperature conditions, Fenton's reagent and potassium persulfate no antimicrobial activity was observed with respect to the test culture *Staphylococcus aureus*. Inhibition zone of microorganisms growth was absent and compared with the control solution of purified water. Sodium ceftriaxone oxidation with 30% hydrogen peroxide solution is impractical due to the high antimicrobial activity of the reagent itself.

Keywords: chemical destruction, sodium ceftriaxone, antimicrobial activity, neutralization, pharmaceutical wastes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antibiotics found in some of the world's rivers exceed 'safe' levels, global study finds // University of York. – URL: <https://goo.su/ckEqX> (date of access: 12.12.2024).

2. Pharmaceutical compounds in aquatic environments – occurrence, fate and bioremediation prospective / J. P. Fernandes, C. M. Almeida, M. A. Salgado [et al.] // Toxics. – 2021. – Vol. 9, N 10. – P. 257.

3. Анализ проблемы утилизации неиспользованных лекарственных средств или лекарственных средств с истекшим сроком годности / Н. А. Дьякова, Л. А. Великанова, Д. В. Русанова, В. С. Зарянова // Актуальные вопросы современной медицины: материалы 87-й Всерос. Байкальской науч.-практ. конф. молодых учёных и студентов с междунар. участием, Иркутск, 12–14 окт. 2020 г. / под ред. И. В. Малова [и др.]. – Иркутск: Иркутский научный центр хирургии и травматологии, 2021. – С. 248–253.

4. О порядке обращения с медицинскими отходами: постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь и М-ва природных ресурсов и охраны окружающей среды Респ. Беларусь от 2 сент. 2024 г. № 137/44 // ЭТАЛОН : информ.-поисковая система (дата обращения: 09.09.2024).

5. Об утверждении инструкции о правилах и методах обезвреживания отходов лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники: постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 22 нояб. 2002 г. № 81 // ЭТАЛОН : информ.-поисковая система (дата обращения: 09.09.2024).

6. Михайлова, Н. И. Спектрофотометрический контроль процесса химической деструкции цефтриаксона / Н. И. Михайлова, Р. И. Лукашов, И. А. Дробышевская // Здоровье

и окружающая среда : сб. науч. тр. / гл. ред. С. И. Сычик. – Минск: Издат. центр Белорус. гос. ун-та, 2023. – С. 214–218.

7. Общая характеристика лекарственного препарата Цефтриаксон. – URL: https://www.rceth.by/NDfiles/instr/20_06_1019_s.pdf (дата обращения: 21.12.2024).

8. Государственная фармакопея Республики Беларусь : (ГФ РБ II) : разраб. на основе Европ. Фармакопеи : в 2 т. : введ. в действие с 1 янв. 2013 г. приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 25.04.2012 г. № 453. – Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; [под общ. ред. А. А. Шерякова]. – Молодечно: Победа, 2012. – 1217 с.

REFERENCES

1. Antibiotics found in some of the world's rivers exceed 'safe' levels, global study finds. University of York. URL: <https://goo.su/ckEqX> (date of access: 12.12.2024)

2. Fernandes JP, Almeida CM, Salgado MA, Carvalho MF, Mucha AP. Pharmaceutical compounds in aquatic environments – occurrence, fate and bioremediation prospective. *Toxics*. 2021;9(10):257. doi: 10.3390/toxics9100257

3. D'iakova NA, Velikanova LA, Rusanova DV, Zarianova VS. Analysis of the problem of disposal of unused or expired drugs. V: Malov IV, Seminskii IZh, Makeev AG, Dolbilkin AA, redaktory. Aktual'nye voprosy sovremennoi meditsiny. Materialy 87-i Vseros Baikal'skoi nauch-prakt konf molodykh uchenykh i studentov s mezhdunar uchastiem; 2020 Okt 12–14; Irkutsk. Irkutsk, RF: Irkutskii nauchnyi tsentr khirurgii i travmatologii; 2021. s. 248–53. (In Russ.)

4. On the procedure for handling medical waste: postanovlenie M-va zdravookhraneniia Resp

Belarus' i M-va prirodnikh resursov i okhrany okruzhaiushchei sredy Resp Belarus' ot 2 sent 2024 g № 137/44. ETALON : inform-poiskovaia sistema (data obrashcheniia: 09.09.2024). (In Russ.)

5. On approval of the instruction on the rules and methods for the disposal of waste from medicines, medical products and medical equipment: postanovlenie M-va zdravookhraneniia Resp Belarus' ot 22 noiab 2002 g № 81. ETALON : inform-poiskovaia sistema (data obrashcheniia: 09.09.2024). (In Russ.)

6. Mikhailova NI, Lukashov RI, Drobyshevskaiia IA. Spectrophotometric control of the process of chemical destruction of ceftriaxone. V: Sychik SI, glavnyi redactor. Zdorov'e i okruzhaiushchaia sreda : sb nauch tr. Minsk, RB: Izdat tsentr Belorus gos un-ta; 2023. s. 214–8. (In Russ.)

7. General characteristics of the drug Ceftriaxone. URL: https://www.rceth.by/NDfiles/instr/20_06_1019_s.pdf (data obrashcheniia: 21.12.2024). (In Russ.)

8. Ministerstvo zdravookhraneniia Respubliki Belarus', Tsentr ekspertiz i ispytani v zdravookhraneni. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: v 2 t. T. 1, General methods of quality control of medicines. Sheriakov AA, redactor. Molodechno, RB: Pobeda; 2012. 1217 s. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

220083, Республика Беларусь,
г. Минск, пр. Дзержинского, 83,
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»,
кафедра фармацевтической химии
с курсом повышения квалификации
и переподготовки,
тел. +375 29 5918430,
e mail: n_mihaylova91@mail.ru,
Михайлова Н. И.

Поступила 23.09.2024 г.