УДК 615.453:615.322:615.276

П. М. Маркін, Н. М. Кононенко

Національний фармацевтичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ОКСИПРОСТУ

Проведено дослідження антимікробної активності та гострої токсичності оксипросту. Експериментально встановлено, що оксипрост проявляє антимікробну активність відносно основних штамів мікроорганізмів та за класифікацією Сидорова К.К. відноситься до VI класу токсичності, тобто є відносно нешкідливою речовиною.

Ключові слова: оксипрост; антимікробна активність; гостра токсичність

ВСТУП

Хронічний простатит є одним з найбільш поширених захворювань сечостатевої сфери у чоловіків [5]. Останнім часом проблема даної патології набула особливої актуальності у зв'язку зі значним збільшенням частоти захворювань, обумовлених рядом медичних, екологічних та соціальних причин. За даними різних авторів на хронічний простатит страждає від 30 до 58% чоловіків, серед яких переважну більшість становлять особи молодого репродуктивного віку. Перебіг хронічного простатиту з загостреннями нерідко призводить до розвитку цілого ряду ускладнень та порушень функціонування різних органів і систем, у тому числі статевої функції (зниження потенції, розлади фертильності, безпліддя) [10]. В основі захворювання лежить велика кількість патогенетичних факторів, що і обумовлює труднощі досягнення повного одужання, недивлячись на тривале лікування з використанням різних методів. Зважаючи на це, в фармакотерапії хронічного простатиту перевагу надають препаратам, що мають комплексну дію: протизапальну, аналгетичну, антибактеріальну, простатопротекторну, а також низьку токсичність [7,10].

Метою нашої роботи було вивчення антимікробної активності та гострої токсичності нового похідного (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти під умовною назвою «Оксипрост». Оксипрост був синтезований на кафедрі аналітичної хімії НФаУ і за попередніми дослідженнями проявив виражену протизапальну та антиоксидантну активність.

© П. М. Маркін, Н. М. Кононенко, 2011

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Антимікробну активність оксипросту, приготованого у вигляді 10% розчину, вивчали методом дифузії субстанції в агар (метод «колодязів») [2]. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона (Дагестанський НДІ поживних середовищ; термін придатності середовища – до XII 2011 р.). Препаратом порівняння служив диметилсульфоксид. Згідно з рекомендаціями ВООЗ для оцінки активності субстанції використовували тест-штами Staphylococcus aureus ATCC 26923, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Bacillus subtilis ATCC 6633, Proteus vulgaris ATCC 4636, Candida ablicans ATCC 885/653 [1]. Мікробне навантаження становило 107 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. Для роботи використовували 18-24 – годинну культуру мікроорганізмів.

Визначення антимікробної активності проводили у двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар являв собою підкладку висотою 10 мм, на яку строго горизонтально встановлювали 3–6 тонкостінних циліндрів із нержавіючої сталі в діаметрі 8 мм та висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, який складався із поживного агаризованого середовища, розплавленого і охолодженого до 40 ^{0}С. У даний шар вносили відповідний стандарт добової культури тест – мікроба. Попередньо верхній шар добре розмішували до утворення однорідної маси. Після застигання за допомогою стерильного пінцету циліндри витягували і на місце

утворених лунок розміщували досліджувану субстанцію з урахуванням її об'єму (0,3 мл).

Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14 до 16 мл. Спочатку чашки Петрі підсушували протягом 30–40 хвилин при кімнатній температурі, а потім поміщали в термостат на 18–24 години.

Про рівень антимікробної активності судили за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з субстанцією, використовуючи наступні критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказує на те, що мікроорганізм нечутливий до внесеної в лунку субстанції;
- зони затримки росту діаметром 10–15 мм вказують на малу чутливість культури відносно досліджуваної субстанції;
- зони затримки росту діаметром 15–25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму відносно досліджуваної субстанції;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів відносно досліджуваної субстанції.

Дослідження проводили в лабораторії біохімії мікроорганізмів і поживних середовищ ДУ «ІМІ ім. Мечникова НАМНУ».

Гостру токсичність оксипросту визначали на двох видах лабораторних тварин – нелінійних білих мишах масою 20±2 г і білих щурах масою 200±20 г обох статей за умов внутрішньоочеревинного та внутрішньошлункового введення за методом Кербера [8]. До початку дослідження піддослідні тварини протягом 5-ти днів проходили акліматизацію в умовах експериментальної кімнати [3,6]. Оксипрост уводили внутрішньоочеревинно у дозах від 1000 до 7000 мг/кг у вигляді водної тонко-дисперсної суспензії, стабілізованої твіном-80; внутрішньошлунково – від 2000 до 11000 мг/кг. Кожну дозу досліджували на 6 тваринах. Спостереження проводили протягом 14 днів і оцінювали загальний стан тварин, стан хутра та слизових оболонок, враховували кількість загиблих тварин та кількість тварин, що вижили. Середню летальну дозу розраховували за формулою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma(zd)}{n}$$, де

LD_{100} – доза, яка викликала загибель усіх дослідних тварин;

z – середня величина між кількістю загиблих тварин у «сусідніх» групах;

d – інтервал між дозами;

n – кількість тварин у кожній групі.

При побудові графіка «доза-ефект» була визначена приблизна стандартна похибка LD_{50} за формулою Геддама. Стандарт розподілу розраховували за графіком:

$$S = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2}.$$

За формулою Геддама:

$$SLD_{50} = \sqrt{KSd/n},$$

де: К –константа 0,564;

S –стандарт розподілу;

d – інтервал між дозами;

n – кількість тварин у кожній групі.

Ступінь токсичності встановлювали за класифікацією Сидорова К. К. [9].

Одержані результати обробляли прийнятими методами варіаційної статистики за критерієм t Стьюдента з використанням програмного забезпечення «Windows-XP», електронних таблиць Excel [4].

Таблиця 1

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ОКСИПРОСТУ

Препарат	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм					
	Staphylococcus aureus ATCC 26923	Escherichia coli ATCC 25922	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Proteus vulgaris ATCC 4636	Bacillus subtilis ATCC 6633	Candida ablicans ATCC 885/653
Оксирост 10%	22±0,3	21±0,2	20±0,3	18±0,3	21±0,1	12±0,3
Диметилсульфоксид	13±0,5	15±0,9	12±0,6	13±0,4	19±0,4	0

Таблиця 2

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ОКСИПРОСТУ ЗА УМОВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО ШЛЯХУ ВВЕДЕННЯ

Досліджувана субстанція	Вид лабораторних тварин	LD_{16}	LD_{50}	LD_{84}
Оксипрост	миші	2000	3500±357,5	5000
	щури	1500	3167±342,8	4000

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати, одержані в експерименті, показали, що досліджувана субстанція проявляє антимікробну дію відносно штамів Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Proteus vulgaris, Candida ablicans і перевищує активність препарату порівняння (табл. 1).

Експериментально встановлено, що середня летальна доза оксипросту при внутрішньоочеревинному шляху введення для мишей складає 3500±357,5 мг/кг, для щурів – 3167 ±342,8 мг/кг (табл. 2). LD_{50} при внутрішньошлунковому шляху введення встановити не вдалось, так як всі тварини залишалися живими, рухливими, з добрим апетитом та блискучим хутром до закінчення періоду дослідження.

ВИСНОВКИ

1. Досліджувана субстанція проявляє антимікробну активність відносно основних штамів мікроорганізмів.

2. Нова сполука, похідна (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти за класифікацією Сидорова К.К. відноситься до VI класу токсичності, тобто є відносно нешкідливою речовиною.

3. Отримані результати свідчать про доцільність подальшого поглибленого вивчення оксипросту як перспективного лікарського засобу для лікування запальних захворювань сечостатевої сфери у чоловіків.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Інформаційний лист МОЗ України № 05.4.1/1670, Київ, 2001.
2. Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Широбоков В. П. та ін.: [метод. рекоменд.] – К., 2004. – 38 с.
3. Доклінічне дослідження лікарських засобів: [метод. рекоменд.] / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Видавничий дім «Авіценна», 2001. – 528 с.
4. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.
5. Мазо Е. Б., Попов С. В. Хронический бактериальный простатит / Е. Б. Мазо, С. В. Попов // Врачебное сословие. – 2004. – № 1. – С. 2-18.
6. Науково–практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. О. Філоненко, Г. А. Сайфетдинова]. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
7. Сегал А., Колхир В. Современная лекарственная терапия хронического простатита // Фармацевт. вестник. – 2002. – № 13. – С. 154.
8. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М.: Всерос. научн. центр по безопасности биологически активних веществ, 2000. – 352 с.
9. Сернов К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К. К. Сидоров // Токсикол. нов. пром. хим. веществ. – 1973. – № 13. – С. 47-51.
10. Nickel J. C. Predictors of patient response to antibiotic therapy for the chronic rostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a prospective multicenter clinical trial // J. Urol. – 2001. – Vol. 165. – P. 1539-1544.

УДК 615.453:615.322:615.276

П. Н. Маркин, Н. Н. Кононенко

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ И ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ОКСИПРОСТА

Проведено исследование антимикробной активности и острой токсичности оксипроста. Экспериментально установлено, что оксипрост проявляет антимикробную активность относительно основных штаммов микроорганизмов и по классификации Сидорова К. К. относится к VI классу токсичности и является относительно безвредным веществом.

Ключевые слова: оксипрост; антимикробная активность; острая токсичность

UDC 615.453:615.322:615.276

P. M. Markin, N. M. Kononenko

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND ACUTE TOXICITY OF OXYPROST

Investigation of antimicrobial activity and acute toxicity of oxyprost has been. It has been found experimentally that oxyprost shows antimicrobial activity against general strains of microorganisms and according to Sidorov's classification it relates to 6th class of toxicity, and it is relatively harmless substance.

Key words: oxyprost; antimicrobial activity; acute toxicity

Адреса для листування:
61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12.
Кафедра патологічної фізіології
Тел. (057) 706-30-66

Надійшла до редакції:
16.02.2011