

УДК 618.1:615.454.1:616-093-022.11

**ВИБІР КОНЦЕНТРАЦІЇ АКТИВНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ
ІНГРЕДІЄНТІВ ДЛЯ ВАГІНАЛЬНОГО ГЕЛЮ НА ПІДСТАВІ
МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Криклива І.О., Стрілець О.П., Рубан О.А.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. Вагінальний кандидоз є актуальною проблемою насамперед в гінекології, оскільки кожна третя жінка в світі рано чи пізно стикається з таким захворюванням. Викликається хвороба дріжджоподібними грибами роду *Candida albicans*, які входять до складу нормальної мікрофлори піхви. Свербіж, почервоніння, набряклість статевих органів, біль при сечовипусканні і статевому акті, сирнисті виділення білого кольору з кислуватим запахом - основні ознаки молочниці [3]. Виникнення кандидозу обумовлено захворюванням шлунково-кишкового тракту, патологією ендокринної і нервової системи, анемією, соматичними захворюваннями, а також нераціональним використанням різних медикаментів, таких як гормональні протизаплідні препарати, системні глюкокортикоїди, цитостатики та інші засоби, які впливають на стан імунітету, негативний вплив екологічних факторів навколишнього середовища, широке використання хімічних засобів [5]. На сьогоднішній день є безліч препаратів для лікування молочниці (протигрибкові засоби на основі клотримазолу, натаміцину, ністатину, флуконазолу). Одні з них застосовують місцево (креми, гелі, вагінальні таблетки, супозиторії), інші - перорально (таблетки, капсули). Застосування у складі лікарських засобів компонентів природного походження на сьогоднішній день є дуже актуальним питанням, що пов'язано з багатьма перевагами та мінімальними побічними ефектами при їх використанні. У зв'язку з цим об'єктом наших досліджень були обрані ефірна олія чайного дерева, яка є активною протигрибковою речовиною, знімає свербіж і неприємні відчуття та ефірна олія лаванди, що володіє протигрибковою дією, не порушує мікрофлору піхви, знімає свербіж, запалення, пом'якшує зони інфікування [1].

Метою нашої роботи є експериментальне визначення оптимальної концентрації ефірних олій чайного дерева та лаванди у складі гелю на основі карбомеру Aristoflex®AVC, для лікуванні вагінальних кандидозів.

Методи дослідження. Зразки гелів готували на основі гелеутворювача Aristoflex®AVC з концентрацією 3 %. До складу зразків вводили олію чайного дерева та ефірну олію лаванди у концентрації 1-3%. Вивчення антибактеріальної активності зразків гелів здійснювали на базі кафедри біотехнології НФаУ під керівництвом проф. О.П.Стрілець.

Основні результати. Протимікробну активність дослідних зразків вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів»). Цей метод ґрунтується на здатності активніючих речовин дифундувати в агарове середовище, яке попередньо інокульовано культурами мікроорганізмів. Результати досліджень дозволяють характеризувати як антимікробну активність препарату, так і вивільнення антимікробних речовин з основи, оскільки зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії цих речовин в

щільне живильне середовище. Приготовани зразки гелів зберігали в умовах холодильника (5 ± 3 °C). Протимікробну активність визначали відразу після приготування засобу. Усі дослідження виконували у асептичних умовах, з використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки AC2-4E1 «Esco», Індонезія)[4]. В якості тест-культур використовували чисті культури: грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативні культури *Escherichia coli* ATCC 25922 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, а також культури грибів: дріжджеподібний гриб роду *Candida* - *Candida albicans* ATCC 885-653, музейні культури дріжджеподібних грибів *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*. При проведенні дослідів використовували однодобові суспензії бактеріальних мікроорганізмів і дводобові суспензії культур грибів у фізіологічному розчині. Мікробне навантаження складало 10^7 колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів в 1 мл поживного середовища (КУО/мл)[2]. До чашок Петрі, які встановлені на горизонтальній поверхні, вносили по 10 мл розтопленого «голодного» агару. Після застигання нижнього шару агару на його поверхні на рівній відстані один від одного та від краю чашки розміщали 3 стерильних сталевих тонкостінних циліндри (внутрішній діаметр – $6,0\pm 0,1$ мм, висота – $10,0\pm 0,1$ мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з 14 мл розтопленого та охолодженого до $45\text{--}48$ °C агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму. При роботі з бактеріальними культурами для другого шару використовували м'ясо-пептонний агар (МПА). Після охолодження верхнього шару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вносили досліджувані зразки до повного їх заповнення. Чашки Петрі витримували 30-40 хвилин при кімнатній температурі та поміщали в термостат (бактеріальні культури при температурі $32,5\pm 2,5$ °C на 18-24 години, культури грибів - при температурі $22,5\pm 2,5$ °C на 48 годин). Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони затримки росту мікроорганізмів, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту. Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зону затримки діаметром до 10 мм, оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в лунку зразка;

- зони затримки росту діаметром 11-15 мм оцінювали як слабку чутливість культури до концентрації діючої протимікробної речовини, що досліджувалась;

- зони затримки росту діаметром 16-25 мм – як показник помірної чутливості штаму мікроорганізму до досліджуваного зразка;

- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного зразка.

В результаті проведених досліджень по вивченню протимікробних властивостей вагінального гелю по відношенню до різних культур

мікроорганізмів, а саме бактеріальних культур і культур грибів, були отримані результати, які наведені у таблицях 1-2.

Таблиця 1

Результати антимікробної активності зразків (n=5)

Зразок (м'яка лікарська форма)	Культури мікроорганізмів			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25293	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853
Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм				
№ 1 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії чайного дерева 1%	15,2±0,4	14,2±0,4	15,4±0,5	14,2±0,4
№ 2 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії чайного дерева 2%	17,4±0,5	15,8±0,4	19,8±0,5	15,2±0,4
№ 3 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії чайного дерева 3%	17,8±0,4	17,8±0,4	21,0±0,7	16,4±0,5
№ 4 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії лаванди 1%	14,2±0,4	15,2±0,4	15,4±0,5	15,0±0,7
№ 5 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії лаванди 2%	15,4±0,5	15,2±0,4	15,2±0,8	15,0±0,7
№ 6 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії лаванди 3%	17,4±0,5	17,7±0,5	17,2±0,4	16,0±0,7

Дані, які отримані експериментально та представлені в таблиці 1, свідчать про те, що усі досліджувані зразки №1-6 володіють широким спектром протимікробної дії і помірною антимікробною активністю по відношенню до використаних тест-штамів, а саме, до бактерійних грампозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25293 і спорової культури *Bacillus subtilis* ATCC 6633) і грамнегативних (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853) культур. Досліджуваний зразок № 3 проявляє найбільшу активність серед аналізованих зразків по відношенню до усіх використаних культур мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus* - 17,8±0,4; *Bacillus subtilis* - 17,8±0,4; *Escherichia coli* - 21,0±0,7; *Ps. aeruginosa* - 16,4±0,5). Меншу антибактеріальну активність мають зразки №1,4 та 5. Таким чином, отримані результати дослідів

показали, що усі досліджувані зразки гелю вагінального володіють широким спектром антимікробної дії по відношенню до культур бактерій. Найбільш активними серед досліджуваних зразків є зразки №2, №3 і №6, які володіють помірною протибактеріальною дією.

Таблиця 2

Результати антифунгальної активності зразків (n=5)

Зразок (м'яка лікарська форма)	Культури мікроорганізмів			
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>
	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм			
№ 1 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії чайного дерева 1%	23,4±0,5	-	-	-
№ 2 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії чайного дерева 2%	28,6±0,5	18,6±0,5	17,8±0,4	15,2±0,4
№ 3 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії чайного дерева 3%	33,6±0,5	27,8±0,4	21,0±0,7	20,0±0,7
№ 4 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії лаванди 1%	-	-	-	-
№ 5 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії лаванди 2%	-	-	-	-
№ 6 Гель на основі Aristoflex®AVC з вмістом ефірної олії лаванди 3%	21,4±0,5	-	-	-

Примітка: « - » - зона затримки росту мікроорганізму відсутня.

Дані, які наведено у таблиці 2, по вивченню антифунгальної активності досліджуваних зразків показали, що тільки зразки №2 і №3 володіють активністю по відношенню до усіх культур дріжджеподібних грибів роду Кандида, а саме *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*. Слід зазначити, що по відношенню до грибу *C. albicans* виявили активність зразки №1, №2, №3 і №6 – діаметри зон затримки росту складають 23,4±0,5, 28,6±0,5, 33,6±0,5, 21,4±0,5 відповідно. Серед зразків №2 і №3 найбільшу антифунгальну активність має зразок №3 - *C. albicans* (28,6±0,5 і 33,6±0,5 відповідно), *C. tropicalis* (18,6±0,5 і 27,8±0,4 відповідно), *C. glabrata* (17,8±0,4 і 21,0±0,7 відповідно) і *C. krusei* (15,2±0,4 і 20,0±0,7 відповідно).

Висновки. Проведені дослідження довели, що перспективним для подальших робіт з розробки складу та технології лікарських засобів з протимікробною дією з найбільшою активністю по відношенню до бактерійних культур та культур дріжджіподібних грибів є зразок №3 до складу якого входить ефірна олія чайного дерева у концентрації 3%.

Список літератури

1. Антимикробные и ранозаживляющие свойства комбинации этанольных экстрактов и эфирных масел лекарственных растений /Л.К. Кулатаева и др. // Раст. ресурсы. 2006. – Т. 42, Вып. 2. – С. 102 –109.
2. Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Широбоков В.П. і інш. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком.- Київ, 2004. – 38 с.
3. Гінекологія: підручник / О. В. Степанівська, М. О. Щербіна. – 2-е вид. виправл. – К.: ВСВ “Медицина”, 2013. – 432 с.
4. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
5. Евсеев, А. А., Современные принципы диагностики и лечения вагинального кандидоза / А.А. Евсеев // Вестник репродуктивного здоровья. – 2009. – С. 20–25.