

## ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ

*І.А.Зупанець, Джехад Абдельрауф Салех Ібрахім, Є.Ф.Гринцов, Л.Ф.Силаєва*

Національний фармацевтичний університет

*Ключові слова: глюкозаміну гідрохлорид; доксициклін; гостра токсичність; антимікробна дія*

*Наведені результати вивчення гострої токсичності та антимікробної дії комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом. Вивчалися два співвідношення: (1:1) та (1:2) у порівнянні з доксицикліном та глюкозаміну гідрохлоридом у вигляді індивідуальних субстанцій. Встановлено, що комбінація речовин в обох співвідношеннях сприяє зниженню токсичності доксицикліну. Власне доксициклін відноситься до IV класу (малотоксичні речовини), а його обидві комбінації з глюкозаміну гідрохлоридом — до V (практично нетоксичні речовини). Виявлена здатність глюкозаміну гідрохлориду потенціювати антимікробну дію доксицикліну у співвідношенні (1:1) проти 5 штамів мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* кл. 17, *Escherichia coli* кл. 78). За результатами роботи встановлена більш ефективна комбінація доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом — (1:1), яка є перспективною для створення на її основі нового препарату для лікування захворювань інфекційного генезу.*

Ріст частоти інфекційних захворювань, виникнення стійких до антибіотиків штамів, збільшення числа випадків захворювань з нетиповими збудниками диктують необхідність як пошуку нових антибактеріальних засобів, так і підвищення ефективності терапії при використанні традиційних антибіотиків [5, 9, 13, 14, 17, 18, 19]. Серед антибіотиків, що добре зарекомендували себе в клінічній практиці, представник групи тетрациклінів — доксициклін [1, 8, 11, 16]. Спектр антибактеріальної дії доксицикліну поширюється як на грампозитивні мікроорганізми, так і на більшість грамнегативних. Але застосування антибіотика часто супроводжується побічними явищами, тому підвищення ефективності терапії доксицикліном принесло б суттєву економічну та соціальну користь при лікуванні значного числа захворювань [12, 15, 20, 21]. Таким чином, сприяти підвищенню ефективності даного лікарського засобу, на наш погляд, могла б стати його комбі-

нація з глюкозаміну гідро-хлоридом, природним аміноцукром, який має протизапальну і цитопротекторну здатність [2, 3, 6].

Метою даної роботи було вивчення гострої токсичності та антимікробної дії комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом (Д+ГА) у двох співвідношеннях — (1:1) та (1:2) у порівнянні з дією індивідуальних субстанцій доксицикліну та глюкозаміну гідрохлориду.

### Матеріали та методи

Однією з токсикологічних характеристик фармакологічної дії препарату є показник ЛД<sub>50</sub> (середньосмертельна доза), який визначається при вивченні гострої токсичності та використовується для розрахунку терапевтичного індексу — ТІ (ЛД<sub>50</sub>/ЕД<sub>50</sub>). Останній визначає широту фармакологічної дії та безпечність застосування препарату. Для знаходження середньосмертельної дози (ЛД<sub>50</sub>) нового препарату на основі комбінації доксицикліну з

глюкозаміном (Д+ГА) у двох співвідношеннях: (1:1) та (1:2) у порівнянні з доксицикліном та глюкозаміном за експрес-методом Т.В.Пастушенко та співавт. [4, 10] проведено попередні та заключні серії експериментів на щурах. Попередні дослідження гострої токсичності речовин при пероральному введенні у вигляді водних суспензій проводили на двох тваринах. Спостереження проводили протягом двох тижнів та визначали стан тварин, при цьому стежили за проявом ознак інтоксикації (млявість, зниження рухової активності, відсутність апетиту, пригнічення дихання тощо). Потім, враховуючи результати попередніх досліджень, проводили заключні серії експериментів. Для цього згідно з методикою [10] декілька доз досліджуваного об'єкту випробовували на групах, які склалися з трьох тварин. За тваринами спостерігали протягом 2-х тижнів та визначали їх стан, при цьому стежили за проявом ознак інтоксикації (млявість, зниження рухової активності, відсутність апетиту, пригнічення дихання тощо).

Таблиця 1

**Порівняльна характеристика гострої токсичності нового препарату на основі комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у співвідношеннях (1:1) та (1:2) у порівнянні з доксицикліном та глюкозаміну гідрохлоридом**

Об'єкт дослідження	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	Клас токсичності
Доксициклін	3700 (3060÷4340)	IV Малотоксичні
Глюкозаміну гідрохлорид	>15000	VI Відносно нешкідливі
"Д + ГА" (1:1)	5860 (4840÷6880)	V Практично нетоксичні
"Д + ГА" (1:2)	6380 (5540÷7210)	V Практично нетоксичні

Для оцінки класу токсичності досліджуваних об'єктів використовували загальноприйнятну класифікацію [4]. Результати наведені у табл. 1.

Антимікробну дію препаратів вивчали з використанням методу двократних серійних розведень у рідкому поживному середовищі [7]. У пробірки з розведеннями препарату додавали мікробну змиву агарової добової культури 0,9% фізіологічним розчином з наступною стандартизацією за оптичним стандартом каламутності на 5 ОД. Мікробне навантаження складало 10<sup>6</sup> мікробних тіл у 1 мл середовища. Пробірки інкубували при 37°C протягом 18 год, після чого визначали рівень бактеріостатичної дії препарату. Максимальне розведення препарату у пробірці з відсутністю росту культури мікроорганізмів оцінювали як мінімальну пригнічуючу ріст мікроорганізму концентрацію (МПК). У дослідах були використані 7

штамів мікроорганізмів, серед яких референс-штами американської типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 та клінічні штами, виділені з різноманітного матеріалу — гнійного секрету хірургічних ран та у хворих на кишкові дисфункції: *Staphylococcus aureus* кл. 17, *Escherichia coli* кл. 78 та *Pseudomonas aeruginosa* кл. 164. Досліди повторювали тричі по відношенню до кожного штаму мікроорганізму. Результати наведені у табл. 2.

**Результати та їх обговорення**

Результати дослідження гострої токсичності досліджуваних об'єктів показали, що за загальноприйнятою класифікацією [4] у наших дослідах підтверджено встановлений раніше VI клас токсичності глюкозаміну гідрохлориду

— відносно нешкідливі речовини (ЛД<sub>50</sub> > 15000 мг/кг); доксициклін можна віднести до IV класу токсичності — малотоксичні речовини (ЛД<sub>50</sub>=3700 мг/кг), тоді як комбінацію доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у двох співвідношеннях (1:1) та (1:2) — до V класу практично нетоксичних (ЛД<sub>50</sub> (Д+ГА 1:1)=5860 мг/кг, ЛД<sub>50</sub> (Д+ГА 1:2)=6380 мг/кг) (табл. 1). Одержані дані свідчать про те, що глюкозамін сприяє зниженню токсичної дії доксицикліну, що дозволяє перевести останній у суміші з класу малотоксичних до класу практично нетоксичних речовин. Вищезазначене розширює спектр використання антимікробної дії комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом та збільшує її нешкідливість для організму ссавців.

У процесі вивчення антимікробної дії досліджуваних об'єктів встановлено, що рівень антибактеріальної активності комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у співвідношенні (1:2) не відрізняється від активності окремо взятого доксицикліну, про що свідчать їх рівні значення мінімальної пригнічуючої ріст мікроорганізму концентрації (МПК). Сам глюкозаміну гідрохлорид (табл. 2) не виявляв антибактеріальної дії.

При зменшенні кількості глюкозаміну гідрохлориду у комбінації з доксицикліном до співвідношення (1:1) спостерігалось значне підвищення рівня анти-

Таблиця 2

**Характеристика антимікробної дії нового препарату — комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у співвідношеннях (1:1) та (1:2) у порівнянні з доксицикліном та глюкозаміну гідрохлоридом**

Об'єкти	Мінімальна пригнічуюча ріст мікроорганізму концентрація (МПК), мкг/мл						
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> кл. 17	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> кл. 78	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>P. aeruginosa</i> кл. 164	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
Доксициклін (контроль)	0,98	3,9	0,98	1,95	250	500	0,24
Глюкозаміну гідрохлорид (контроль)	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
"Д + ГА" (1:1)	0,245	0,98	0,245	0,49	250	500	0,03
"Д + ГА" (1:2)	0,98	3,9	0,98	1,95	500	500	0,24

Примітка. Наведені значення є середніми з трикратного вивчення активності досліджуваних об'єктів по відношенню до кожного штаму мікроорганізму

бактеріальної дії по відношенню до всіх використаних тест-штамів, за виключенням *P. aegyptiosus*. Так, МПК одного доксицикліну по відношенню до культур *S. aureus* складала 0,98-3,9 мкг, при додаванні глюкозаміну гідрохлориду МПК комбінації знижувалася до 0,245 та 0,98 мкг відповідно. Це свідчить про те, що глюкозамін потенціює антимікробну дію доксицикліну у 4 рази і цей ефект спостерігається тільки для комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у співвідношенні (1:1). Така ж закономірність виявлялася і по відношенню до культур *E. coli*. Найбільш виражений потенціуючий ефект глюкозаміну гідрохлориду спостерігається у відношенні культури *B. Subtilis*, про що свідчить зни-

ження МПК з 0,24 мкг/мл у самого доксицикліну до 0,03 мкг/мл у комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у співвідношенні (1:1), тобто відбувається підвищення активності у 8 разів.

Таким чином, одержані результати мікробіологічних досліджень свідчать про доцільність комбінованого застосування у одній лікарській формі доксицикліну та глюкозаміну гідрохлориду у співвідношенні (1:1), яка обґрунтовується можливістю значно знизити антибактеріальні концентрації доксицикліну та відповідно зменшити токсикоалергічний потенціал антибіотика.

#### ВИСНОВКИ

1. При вивченні гострої токсичності комбінації доксицикліну з

глюкозаміну гідрохлоридом (Д+ГА) у двох співвідношеннях (1:1) та (1:2) у порівнянні з доксицикліном та глюкозаміну гідрохлоридом встановлено, що, власне, доксициклін відноситься до IV класу (малотоксичні речовини), а його комбінація з глюкозаміну гідрохлоридом — до V класу (практично нетоксичні речовини).

2. Встановлена здатність глюкозаміну гідрохлориду потенціувати антимікробну дію доксицикліну у співвідношенні (1:1).

3. За результатами досліджень, наведених у роботі, ефективнішою за антимікробною дією, практично нетоксичною та перспективною для подальшого вивчення є комбінація доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом у співвідношенні (1:1).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Делекторский В.В., Побединский Н.М., Попова Н.В. и др. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 1994. — №2-3. — С. 36-40.
2. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Яковлева Л.В. та ін. // *Фармац. журн.* — 1992. — №2. — С. 37-41.
3. Зупанець І.А., Дроговоз С.М., Яковлева Л.В. и др. // *Физиол. журн.* — 1990. — Т. 36, №2. — С. 115-120.
4. Коваленко В.М., Стефанов О.В., Максимов О.В., Трахтенберг І.М. *Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації) / За ред. член.-кор. АМН України О.В. Стефанова.* — К.: Авіцена, 2001. — С. 74-97.
5. Комиссарова И.А., Нарциссов Я.Р. *Основные направления развития метаболитной терапии — нового направления фармакологии // VI Росс. нац. конгр. "Человек и лекарство": Тез. докл.* — М., 1999. — С. 422.
6. Компанцев В.А., Погорелов В.И., Алябьев А.А. и др. *Разработка лекарственных средств на основе аминокликанов // Матер. IX Росс. нац. конгр. "Человек и лекарство".* — М., 2002. — С. 633.
7. *Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран (МЗ СССР Фармакологический комитет; Даценко Б.М., Бирюкова С.В., Тамм Т.И.).* — М., 1989. — 44 с.
8. Навашин П.С. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 1991. — №1. — С. 48-51.
9. Нарциссов Я.Р. *Молекулярные механизмы действия лекарственных препаратов на основе естественных метаболитов // Тез. докл. VII Росс. нац. конгр. "Человек и лекарство".* — М., 2000. — С. 419.
10. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А. и др. // *Гигиена и санитария*. — 1985. — №6. — С. 46-48.
11. Bianchi A., Legouge R., Lefevre J.C. et al. // *Pathol. Biol. Paris*. — 1996. — Vol. 44. — P. 347-350.
12. Brandt K.D. // *J. Rheum.* — 1995. — Vol. 22, №1. — Suppl. 43. — P. 149-151.
13. Catalan F., Milovanovic A., Prouteau C. // *Pathol. Biol. Paris*. — 1998. — Vol. 2. — P. 144-146.
14. Goldaracena-Tanco M., Aza-Pascual-Salcedo M., Barcena-Caamano M. et al. // *Aten. Primaria*. — 1996. — Vol. 18 (7). P. 357-361.
15. Israel H.A., Ramamurthy N.S., Greenwald R. et al. // *Adv. Dent. Res.* — 1998. — Nov. — 12 (2). — P. 51-55.
16. Miyazaki T., Yomota Ch., Okada S. // *J. Controlled Release*. — 2001. — №3. — P. 337-347.
17. Pellerin J.L., Bourdeau P., Sebbag H. // *Comp-immunol-microbiol-infect-dis.* — 1998. — №2. — P. 115-133.
18. Peters H.J. // *Z. Arztl. Fortbild. Jena*. — 1995. — Vol. 89 (3). — P. 279-286.
19. Saraiva A.H., Jones R.N., Erwin M. et al. // *Rev. Assoc. Med. Bras.* — 1997. Vol. 3. — P. 217-222.
20. Solera J., Martinez-Alfaro E., Saez L. et al. // *Med. Clin. Barc.* — 1994. — Vol. 19. — P. 731-738.
21. Yu Jr.L.P Jr., Burr D.B., Brandt K.D. et al. // *J. Rheum.* — 1996. — Vol. 23, №1. — P. 137-142.