

МІКРОБІОЛОГІЧНА ОЦІНКА “АЛЬТАНУ” ЯК АНТИМІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ

Г.Л.Великоданов, Н.Є.Шевельова, О.М.Дика

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: рослинні поліфеноли; антибактеріальна та антифунгіальна активність; протиінфекційний ефект; чутливість мікроорганізмів

*У результаті комплексного фармакогностичного вивчення коренів, листя, сережок та суплідь субстанцій *Alnus glutinosa Gaertn.* (вільхи клейкої) встановлено, що всі досліджувані об'єкти є перспективними джерелами одержання БАВ: амінокислот, кумаринів, флавоноїдів, дубильних сполук елагової кислоти тощо. Дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності рослинних комплексів, виділених з кори, листя та суплідь вільхи клейкої, проводили методом серійних розведень у поживному середовищі. Хіміотерапевтичний ефект альтан-субстанції вивчали на моделі змішаної інфекції у білих мишей, викликаній підшкірним зараженням сумішшю клінічних штампів *P. aeruginosa* і *S. aureus*. Терапію проводили одночасно з зараженням. Оцінку терапевтичного ефекту давали на підставі клінічного стану, індексу виживаємості тварин та картини патологоанатомічного розтину. Встановлено, що вільха клейка (альтан) виявляє широкий спектр антибактеріальної та антифунгіальної активності. До переваг відноситься також відсутність селективного потенціалу у формуванні антибіотикорезистентності, що визначає довготривалість клінічного прийому альтану без побічної дії на чутливість мікроорганізмів.*

Незважаючи на домінуюче використання в клінічній медицині антибіотиків мікробного, напівсинтетичного та синтетичного походження, останнім часом серйозну увагу привертає можливість одержання антиінфекційних препаратів рослинного та тваринного походження [19]. При цьому доведено, що такі препарати, як “Хлорфіліпт”, “Евкван” та “Альдацид” за ефективністю не поступаються сучасним антибіотикам, а за рівнем біосумісності для організму хворого практично є нешкідливими.

Не випадково сучасна фітотерапія переживає у теперішній час своєрідний ренесанс широкого застосування в клінічній медицині рослинних препаратів [20]. Однією з перспективних рослинних субстанцій для одержання препаратів, які відрізняються вираженою антимікробною активністю,

визнані види роду *Alnus Mill*, антимікробний потенціал яких пов'язаний, насамперед, з дією дубильних речовин [5].

У народній медицині з лікарською метою широко використовують листя, кору та супліддя вільхи клейкої та вільхи сірої. Так, при простудних захворюваннях, ревматизмі, артриті та подагрі рекомендовані сухі ванни зі свіжого листя. Відвари кори вільхи сірої опушеної з високим терапевтичним ефектом використовуються для полоскання горла при хронічному тонзиліті, пародонтозах, при афтозних стоматитах [10, 14, 21].

Вираженою ранозагоючою дією відрізняється відвар чоловічих суцвіть вільхи чагарникової, відвар суплідь яких проявляє лікувальний ефект при туберкульозі легень. У клінічну медицину супліддя вільхи клейкої впроваджені у вигляді галенових препаратів як ефектив-

ний в'язучий засіб при колітах, ентероколітах, диспепсіях, дизентерії [2, 6, 11-13, 18-20, 22].

Вищевикладене є теоретичною базою для вивчення сукупності протиінфекційних властивостей рослинних комплексів з кори, листя та суплідь вільхи клейкої. У результаті проведеного в Національному фармацевтичному університеті комплексного фармакогностичного вивчення кори, листя, сережок та суплідь субстанцій *Alnus glutinosa Gaertn.* (вільхи клейкої) встановлено, що всі досліджені об'єкти є перспективними джерелами одержання біологічно активних речовин: амінокислот, кумаринів, флавоноїдів, дубильних сполук групи елагової кислоти та ін. [9, 15-17].

Особливий інтерес викликає біологічно активна субстанція альтан, виділена із суплідь, яка являє собою суму похідних поліфенолів із групи елаготанінів [1]. За даними [3], цей комплекс володіє антиексудативною активні-

Таблиця 1

**Антибактеріальна активність рослинних комплексів,
виділених з кори, листя та суплідь вільхи клейкої**

Препарат, що вивчається	Мінімальна пригнічуюча концентрація, мг/мл, M±m					
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimureum</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
Сума речовин із суплідь	0,3±0,05	2,3±0,18	0,2±0,04	0,2±0,04	0,6±0,04	0,5±0,04
Сума речовин з кори	2,6±0,15	1,5±0,14	1,1±0,15	1,0±0,15	0,6±0,04	0,5±0,04
Ацетоновий екстракт кори	0,1±0,04	0,7±0,08	0,2±0,04	5,0±0,35	5,7±0,26	2,7±0,08
Екстракт листя	5,7±0,16	5,8±0,49	2,6±0,15	2,5±0,11	5,5±0,08	0,2±0,04
Новоіманін	4,9±0,11	1,0±0,11	0,9±0,04	1,0±0,13	0,1±0,01	0,4±0,05

стю. Опубліковані дані про антиоксидантні та мембранопротекторні властивості рослинних фенолів, водних та етанолових екстрактів суплідь вільхи клейкої [7].

На базі альтан-субстанції створений новий препарат для лікування виразки шлунка і виразкових колітів, розробляється мазь альтану з ранозагоюючими властивостями.

Матеріали та методи

Дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності рослинних комплексів, виділених з кори, листя та суплідь вільхи клейкої, проводили методом серійних розведень у поживному середовищі [4]. В якості препарату порівняння використовували антимікробний фітопрепарат "Новоіманін". Для зараження використовували добові культури референс-штамів бактерій: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Shigella flexneri* ATCC 29903, 14 клінічних штамів, в тому числі *P. aeruginosa* (3), *E. coli* (5), *S. aureus* (5) та *S. typhimurium* (3), дво-

тижневі культури клінічних штамів патогенних грибів-дерматофітів: *Microsporum canis* (4), *Trichophyton rubrum* (3), *Trichophyton gypsum* (3), *Epidermophyton floccosum* (4), *Epidermophyton Kaufman-Wolf* (3), а також дводобову культуру дріжджоподібного гриба *Candida albicans* (3).

Посіви бактерій інкубували при 37°C протягом 18-24 год, *Candida albicans* — протягом 48-72 год. Посіви дерматофітів термостатували при 28°C протягом 14 днів. Культури грибів спостерігали з початку культивування для оцінки росту і можливої морфогенетичної трансформації. Оцінку результатів проводили за видимою затримкою росту тест-мікробів. Антимікробну активність кожного зразка вивчали в триразовому повторенні експериментів.

Хіміотерапевтичний ефект альтан-субстанції вивчали на моделі змішаної інфекції у білих мишей, викликаної підшкірним зараженням сумішшю клінічних штамів *P. aeruginosa* і *S. aureus* [8]. Терапію проводили одночасно з зараженням. Оцінку терапевтичного ефекту давали на підставі клінічного стану, індексу вижива-

ємості тварин та картини патологоанатомічного розтину.

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження показали різний рівень антибактеріальної активності виділених фітокомплексів (табл. 1).

Екстракт із листя виявив антистафілококову дію в концентрації 0,2 мг/мл.

Ацетоновий екстракт з кори характеризувався спрямованим впливом у концентрації 0,1 мг/мл на синьогнійну паличку, сальмонелу, у меншому ступені пригнічував розвиток золотистого стафілокока та інших культур.

Сума речовин із суплідь виявила виражений антибактеріальний ефект у відношенні дизентерійної палички, сальмонели, у меншому ступені — стафілококу та кишкової палички.

Наступним етапом досліджень було вивчення протигрибкової активності речовин, які являють собою суму елаготанінів, виділених із суплідь вільхи клейкої під умовною назвою "Альтан-субстанція". Результати цих експериментів представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Протигрибкова активність альтан-субстанції з суплідь вільхи клейкої

Препарат, що вивчається	Мінімальна пригнічуюча концентрація, мг/мл, M±m					
	<i>M. canis</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>T. gypsum</i>	<i>E. floccosum</i>	<i>E. Kaufman-Wolf</i>	<i>C. albicans</i>
Альтан-субстанція	-	-	-	0,52±0,011	0,26±0,011	0,35±0,036
Новоіманін	-	-	-	-	-	-
Ністатин	0,19±0,009	0,39±0,012	0,39±0,009	0,17±0,009	0,20±0,0014	0,11±0,007
Грізеофульвін	0,01±0,001	0,49±0,009	0,13±0,009	0,04±0,004	0,02±0,001	-

Примітка. "-" — відсутність дії у концентрації 0,5 мг/мл та нижче

Таблиця 3

Вплив альтан-субстанції на розвиток у мишей гнійно-запальних процесів змішаної бактеріальної етіології

Показники	Контрольна група		Експериментальна група	
	абс. показник	%	абс. показник	%
Загальна кількість тварин	15	100,0	15	100,0
Загибло від септикопемії	6	40,0	2	13,3
Динаміка розвитку гнійно-запальних вогнищ, в т.ч.:	14	93,3	15	100,0
Запальний інфільтрат	14	93,3	8	93,3
Абсцес без некрозу	2	13,3	6	40,0
Абсцес з некрозом	9	60,0	1	9,9
Термін захворювання (діб)	більше 14		7	
Органи (колоніє-утворюючі одиниці)				
Лімфатичні вузли	15	100,0	3	20,0
Кров	7	46,6	-	0
Легені	6	40,0	-	0
Печінка	5	33,3	-	0

З даних таблиці випливає, що препарат порівняння “Новоіманін” не виявив протигрибкового ефекту у досліджених концентраціях.

Порівняно низька ефективність широко використовуваного в мікологічній практиці протигрибкового препарату “Ністатин” може бути пояснена антибіотикостійкістю взятого в експеримент клінічного штаму *S. albicans*.

Протигрибковий препарат “Гризеофульвін”, не діючи на *S. albicans*, пригнічував розвиток мікрорспоруму і в меншому ступені — трихофітонів та епідермофітонів.

Очевидні протигрибкові властивості альтан-субстанції у відношенні двох видів дерматофітів та дріжджоподібного гриба в концентраціях 0,52-0,26 мг/мл.

Таким чином, дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності альтан-субстанції показали, що рослинний поліфенольний комплекс із суплідь вільхи клейкої має широкий спектр антимікробної дії, який включає грампозитивні та грамнегативні бактерії, дріжджоподібні гриби та гриби-дерматофіти. При цьому величина інгібуючого ефекту альтан-субстанції різна у відношенні

різних тест-культур мікроорганізмів і варіює від 0,2 до 5,2 мг/мл.

Порівняльне вивчення антибактеріальних властивостей альтан-субстанції показало, що рівень її дії відповідає рівню дії антибактеріальних препаратів рослинного походження та поступається за цією якістю гентаміцину та канаміцину.

Розглядаючи перспективи альтан-субстанції як протиінфекційного препарату, слід зазначити, що її переваги визначаються приналежністю до речовин рослинного походження, які не володіють високою токсичністю, та біологічно сумісні для організму при аліментарному застосуванні. Це є першою перевагою альтан-субстанції в порівнянні з тест-прототипами.

Необхідно також звернути увагу на те, що альтан-субстанція найбільш ефективна у відношенні синьогнійної та дизентерійної палички та малоефективна у відношенні бактерій, що складають нормальну мікрофлору. У плані сучасних вимог лікарської безпеки можна думати, що даний факт є позитивною мікроекологічною характеристикою вивченої альтан-субстанції.

У порівнянні з досліджуваними антибіотиками цей рослинний комплекс виявив активність не тільки у відношенні бактерій, але й у відношенні умовно патогенних та патогенних грибів. У цьому ж аспекті просліджується ще одна, не менш важлива позитивна якість альтану: його використання значною мірою виключає можливість дисбактеріозів і ускладнень, спричинених умовно патогенними грибами, а, отже, виключає необхідність профілактики шляхом застосування фунгістатиків, які, як правило, призначаються в умовах антибіотикотерапії.

Проведені дослідження показали, що альтан-субстанція поєднує антимікробну активність і протизапальну здатність. Цим багатифакторним синергічним ефектом можуть компенсуватися її більш низькі показники антимікробної здатності, виявлені в досліді *in vitro*, тому що одночасно прогнозується антимікробний і протизапальний ефект, відсутній у антибіотиків [9].

З метою більш повного вивчення загального захисного протиінфекційного ефекту комплексу із суплідь вільхи клейкої, який виявив *in vitro* широкий спектр антимікробної активності, ми провели дослідження його антимікробної дії *in vivo* на моделі змішаної інфекції білих мишей, обумовленої клінічними штамами золотистого стафілокока та синьогнійної палички. У зв'язку з умовами мікстоного зараження, що обтяжується клінічним перебігом інфекційного процесу, досліджувана субстанція вводилася одночасно з мікробною суспензією, а потім двічі на добу протягом тижня. Результати проведених експериментів наведені в табл. 3.

Отримані дані показали, що введення альтан-субстанції експериментальним тваринам забезпечило більш легкий клінічний перебіг захворювання, переважний розвиток запального інфільтрату без флегмонозної еволюції, знизило ступінь можливості генералізації інфекції, підвищило рівень виживаємості тварин. В ос-

нові захисного ефекту альтан-субстанції може лежати припущення про можливу синергидність біологічних властивостей альтану в антиінфекційному ефекті.

ВИСНОВКИ

1. Альтан як рослинний препарат, отриманий з вільхи клейкої, виявляє широкий спектр ан-

тибактеріальної та антифунгіальної активності, що пов'язано із сумарним вмістом у його хімічному складі поліфенольних комплексів.

2. Незважаючи на те, що за абсолютними рівнями антимікробної активності альтан не порівнюваний за антибактеріальною

активністю, до його переваг відноситься відсутність селективного потенціалу у формуванні антибіотикорезистентності. Це означає довготривалість клінічного прийому альтану без виникнення побічної дії у відношенні бактерій, які складають нормальну мікрофлору.

ЛІТЕРАТУРА

1. А.с. 3935816 СССР, МКИ А 61 К 35/78. Способ получения суммы полифенолов / О.П.Хворост, Н.Ф.Комисаренко, А.Г.Сербин, Л.А.Оспицева, Г.В.Оболонцева, Э.Я.Рязанцев (СССР). — №3935816/28 — 04; Заявл.: 22.07.85. — Не подл. публ. в откр. печати.
2. Гарбарець М.О., Западник В.Г. Довідник з фітотерапії. — К.: Вища школа, 1982. — 199 с.
3. Карпенко О.Я. Изучение антиэкссудативной активности субстанции альтана //Совр. проблемы фармации: Тез. докл. респ. научно-практ. конф. — Х., 1993. — С. 132-133.
4. Методические указания по применению унифицированных методов определения чувствительности микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам / МЗ СССР. — М., 1975. — 31 с.
5. Митягина З.М., Пшеничнова И.Р., Старикова Ю.П. Препараты типа таннала из ольхи клейкой и их антибактериальные свойства. Науч. тр. Пермского гос. фармац. института. — 1967. — Вып. 2. — С. 51-58.
6. Носаль М.А., Носаль И.М. Лекарственные растения и способы их применения в народе. — К.: Госмедиздат, 1953. — 255 с.
7. Падалко В.И., Суходуб А.Л., Никитченко Ю.В. и др. //Фармаком. — 1998. — №2. — С. 22-25.
8. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. — М.: Медицина, 1971. — 404 с.
9. Хворост О.П. Фитохимическое изучение ольхи клейкой: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Х., 1986. — 24 с.
10. Bailly M.C., Sollef I.P. //Lett. Infec. Microbiol. Din. — 1993. — Vol. 8, №2-3. — P. 63-68, 70-73.
11. Bestwick C.S., Milne L. //Biochimic. Biophysic. Acta. — 1999. — Vol. 1474. — P. 47-55.
12. Blummel M., Mogomezulu R., Chen X.B. et al. //J. Agricultural Science. — 1999. — Vol. 133. — P. 335-340.
13. Doe W.F. //Gut. — 1989. — Vol. 30. — P. 1679.
14. Duncan S.H., Doherty C.J., Govan J.R.W. et al. //FEMS Microbiology Letters. — 1999. — Vol. 180. — P. 305-310.
15. Duthie S.J., Dobson V.L. //Eur. J. Nutr. — 1999. — Vol. 38. — P. 28-34.
16. Grandesso S. //Hosp. Originat. Sepsis and Ther. — 1993. — №11. — P. 2-6.
17. Harris Anthony, Forres-Viera Carlos, Venkataraman Lata et al. // Clin. Infec. Diseases. — 1999. — Vol. 28, №5. — P. 1128-1133.
18. Lu L., Walker W.A. //Am. J. Clin. Nutr. — 2001. — Suppl. 73. — P. 1124.
19. McCallum R.W. Therapeutic-Pharmacologic Approach to Delayed Gastric Emptying. Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics. Edited by G.Fridman, E.D.Jacobson, R.W.McCallum. — Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997. — P. 127-131.
20. Neu Harold C. //Infect. Diseases. Suppl. — 1993. — №91. — P. 7-13.
21. Parker S.L., Leznoff A., Sussman, G.L. et al. //J. Allergy Clin. Immunol. — 1990. — Vol. 86. — P. 403.
22. Pseudomonas bacteremia in a general hospital / G.Stamos, G.Petrikkos, P.Zoga et al. //5-th Eur. Congr. Clin. Microbiol. and Infect. Diseases. — Oslo, 1991. — Sept. 9-11. — P. 196.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (0572) 47-61-45.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 17.04.2003 р.