

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Рекомендована д.ф.н., професором Т.Г.Ярних

УДК 615.453:618.14-002:619:579]001.5

ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЦИПРОФЛОКСАЦИНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА НАСТОЙКИ ПРОПОЛІСУ 20%

Л.О.Бондаренко, О.І.Тихонов, О.О.Ковальова

Національний фармацевтичний університет

З метою проведення подальшої експериментальної роботи з розробки складу та технології ветеринарного препарату для лікування інфекційних уражень вимені крупної рогатої худоби досліджено антимікробні властивості ципрофлоксацину гідрохлориду, настойки прополісу 20% та допоміжної речовини спирту етилового 96%.

Захворювання, які виникають у вимені корів, завдають вітчизняному молочному скотарству економічного збитку, що багаторазово переважає суму збитку від усіх неінфекційних хвороб у скотарстві. Він складається зі зниження продуктивності корів і погіршення технологічних властивостей молока, вимушеної вибраковки тварин через зниження їх молочності, атрофії четвертей вимені, збільшення частоти захворюваності і загибелі телят через випоювання неякісного (інфікованого) молозива (молока), витрат на лікування та ветеринарне обслуговування. Відповідно до розрахунків статистів сумарний економічний збиток від захворювання вимені у корів еквівалентний вартості 5-8% валового річного надою.

На ринку ветеринарних препаратів як в Україні, так і у світових масштабах представлена велика кількість препаратів, призначених для лікування захворювань вимені. Але проблема ефективної фармакотерапії даної патології все ж таки існує і пов'язана вона з тим, що 90% усіх зареєстрованих препаратів — це антибіотики та різні класи антимікробних засобів [4].

Недостатня вибірковість дії хіміопрепаратів і антибіотиків та їх висока вартість — не головні претензії до цих лікарських засобів. Найгірше те, що широке, часто безконтрольне застосування препаратів (таких, наприклад, як етазол, стрептоцид, норсульфазол, сульфадиметоксин) призвело до того, що мікроорганізми навчилися їм протистояти [3].

Стійкість збудників хвороб поширюється у глобальних масштабах. Наприклад, на початку 1967 р.

в Новій Гвінеї вперше було виявлено невразливі для антибіотиків стрептококи. Вважали, що вони “мешкають” тільки на цій території. Але то була груба помилка. Менш ніж за п'ять років цей вид стрептококів розселився по всій Землі. Причому чим більше впроваджується в медичну практику нових антибіотиків, тим швидше у збудників хвороб виробляється стійкість до них. Цей процес прискорюється якщо не в геометричній, то принаймні в арифметичній прогресії [2].

Резистентність збудників інфекційних захворювань до антибіотиків стає нагальною проблемою у ветеринарній медицині попри впровадження у ветеринарну практику нових антимікробних препаратів, розробку нових схем хіміотерапії. Ефективність багатьох антибактеріальних препаратів, що традиційно застосовуються проти інфекційних захворювань тварин, знижується через зростаюче поширення стійких штамів бактерій. Фактором, що сприяє виникненню резистентності, є, в першу чергу, неправильна і нераціональна антибіотикотерапія — недотримання термінів лікування, невідповідне дозування препарату, невиправдана заміна одного антибіотика іншим, одночасне застосування препаратів-антагоністів тощо.

Тому з метою створення ветеринарного препарату для лікування уражень бактеріальної етіології вимені у корів на кафедрі аптечної технології ліків ім. Д.П.Сала Національного фармацевтичного університету під керівництвом акад. Української АН, д. фарм. наук, проф. О.І.Тихонова проводяться дослідження з вивчення антимікробної активності субстанцій природного та синтетичного походження.

В якості природної сировини досліджується можливість використання продукту бджільництва — прополісу. Практична медицина часто пропонує використовувати саме прополіс як доповнення до дії антибіотиків з метою зниження їх дози при лікуванні бактерійних інфекцій. Серед іншого це може обмежити виникнення стійкості до анти-

біотиків, яка стає великою проблемою для охорони здоров'я. Антибактеріальний спектр прополісу (тобто сукупність видів бактерій, які він може вбивати) дуже широкий. Його виключно висока активність дає можливість обмежити шкоду, яку антибіотики спричиняють організму. Прополіс діє на стафілококи (перш за все — на стійкі до метициліну штами *Staphylococcus aureus*), стрептококи, особливо на *Streptococcus mutants*, *Helicobacter pylori*, який викликає виразки шлунково-кишкового тракту, а також мікрококи, бацили, сальмонели тощо [1, 10].

Завдяки широкому спектру біологічних і фармакологічних властивостей та відсутності токсичної дії на організм людини і тварини прополіс застосовують у медицині та ветеринарії. У світовій практиці використовують прополіс у різних лікарських формах: водних розчинах, настоянках, екстрактах, мазях, пастах, емульсіях, аерозолях, таблетках, порошках, супозиторіях, лікарських плівках, капсулах, жувальних гумках. У ветеринарії досліджено та рекомендовано для зовнішнього застосування: ефірний екстракт прополісу, мазь, настойку прополісу, пасту; для внутрішнього застосування: прополісне молоко, екстракт прополісу на вазеліновій олії, водно-спиртову емульсію; біогель 5; для внутрішньопорожнинного застосування при маститах: лініменти на основі соняшникової олії, риб'ячого жиру, поліетиленгліколю; для аерозольного застосування при респіраторних захворюваннях тварин: розчини на поліетиленгліколі, водно-спиртові емульсії [6, 9].

В якості субстанції синтетичного походження при створенні ветеринарного препарату для лікування інфекційних уражень вимені нами було вибрано для проведення подальших досліджень ципрофлоксацину гідрохлорид "золотий стандарт" групи фторхінолонів. Вибір обґрунтовувався, поперше, мікробним ценозом даних уражень вимені, який представлений широким спектром наборів штамів патогенних мікроорганізмів, а в більшості аеробними грамнегативними бактеріями, до яких група фторхінолонів дуже чутлива. По-друге, механізмом дії фторхінолонів, який описується за двома напрямками: безпосередній вплив на ДНК — гідразу мікробної клітини та вплив на топоізомеразу IV, що надає певні переваги цій групі антимікробних засобів, оскільки наявність двох мішеней в мікробній клітині призводить до зниження ризику виникнення селекцій резистентних штамів мікроорганізмів, а можлива резистентність до препаратів формується повільно та поступово ("багатоступеневий" тип). Окрім цього, фторхінолонам притаманна низька токсичність та наявність постантибіотичного ефекту [8].

Матеріали та методи

Мікробіологічні дослідження виконувалися на базі Державної установи "Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова" згідно з вимогами ДФУ.

Розплавлене агарове поживне середовище охолоджували до 45°C, розливали нижнім шаром у чашки Петрі в об'ємі 10 мл.

Після застигання агару на ньому розміщували шість стерильних циліндрів із нержавіючої сталі висотою 10 мм з внутрішнім діаметром 8 мм, навколо яких розливали верхнім шаром середовище в об'ємі 15 мл, засіяне відповідними культурами мікроорганізмів.

Мікробне навантаження складало 1×10^7 КУО на 1 мл середовища.

Після застигання верхнього шару агару циліндри виймали стерильним пінцетом і в утворені лунки вносили досліджуваний зразок.

Чашки Петрі витримували протягом 1 год при кімнатній температурі, після чого поміщали у термостат і інкубували протягом 24 год при температурі 37°C.

Як тест-штами використовували еталонні штами з американської типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885-653.

При їх вирощуванні та проведенні досліджень використовували відповідні поживні середовища, зазначені в національній частині ДФУ 1-е вид., 2.6.1, с. 101. — середовище №1 при вивченні антибактеріальної активності та середовище №2 — при вивченні протигрибкової активності препаратів.

Рівень антимікробної активності досліджуваних зразків визначали за діаметром зони затримки росту культури навколо лунки з внесеними досліджуваними зразками. При оцінці антимікробної активності, а також при вивченні антибіотикостійких штамів застосовували наступні критерії:

- відсутність зон росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказують на те, що мікроорганізми не чутливі до внесеного в лунки досліджуваного зразка або концентрації антибіотика;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на малу чутливість культури до випробовуваної концентрації антибактеріальної речовини;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму до випробовуваного лікарського засобу;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів досліджуваних об'єктів.

Результати та їх обговорення

Нами наведені результати проведених досліджень з вивчення антимікробної активності ципрофлоксацину гідрохлориду, настойки прополісу 20% та допоміжної речовини — спирту етилового 96%. Згідно з даними таблиці досліджувані об'єкти виявили широкий спектр антимікробної дії у відношенні використаного набору референт-штамів, який включав грамположитивні та грамнегативні культури мікроорганізмів.

Таблиця

Антимікробна активність досліджуваних зразків

Об'єкти	Діаметр зони затримки росту тест-штаму, мм				
	S.aureus ATCC 25923	E.coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 9027	B.subtilis ATCC 6633	C.albicans ATCC 885-653
Ципрофлоксацину гідрохлорид	36,0±1,5	44,1±2,0	43,1±1,0	50,4±1,5	14,1±1,0
Настойка прополісу 20%	18,2±1,0	16,1±1,6	13,4±2,0	16,2±2,0	13,0±1,0
Спирт етиловий 96%	12,0±1,0	12,0±1,0	11,0±1,0	12,5±1,5	12,0±1,0

Примітка. Наведені в таблиці дані є середніми результатами 3-кратного визначення активності препаратів відносно кожного референс-штаму мікроорганізмів.

Найбільшу чутливість до дії ципрофлоксацину гідрохлориду проявили спорова культура *Bacillus subtilis* та грамнегативні тести — штами *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa*. *Staphylococcus aureus* виявилось менш чутливими до дії ципрофлоксацину гідрохлориду у порівнянні з попередніми наборами тест-штамів. Ще менш чутливою виявилася культура гриба *Candida albicans* до дії субстанції.

Чутливість культур до дії настойки прополісу 20% виглядає наступним чином: *S. aureus* > *B. subtilis* > *E. coli* > *P. aeruginosa* > *C. albicans*.

Дослідження антимікробних властивостей спирту етилового 96% проводили з метою визначення антимікробної активності діючих речовин настойки прополісу 20%. При розробці лікарської форми, технологічний процес якої передбачає видалення спирту етилового з настойки, за даними, наведеними в таблиці, можна встановити антимікробний ефект діючих речовин настойки прополісу 20%, виготовленої на спирті етиловому 96%, шляхом розрахунку різниці між діаметрами зон затримки росту мікроорганізмів настойки прополісу 20% та спирту етилового 96%. Таке можли-

ве при створенні, наприклад, твердої лікарської форми методом вологої грануляції, коли відбувається процес видалення спирту.

Використання бінарної композиції настойки прополісу 20% та хіміотерапевтичної субстанції — ципрофлоксацину гідрохлориду з метою створення ветеринарних препаратів з антимікробною активністю для лікування уражень вимені приводить до зменшення концентрації субстанції синтетичного походження, оскільки таке сумісне поєднання спричиняє виникнення синергізму [5].

ВИСНОВКИ

Проведено вивчення антимікробної активності настойки прополісу 20%, ципрофлоксацину гідрохлориду та допоміжної речовини — спирту етилового 96%. Встановлено чутливість наборів культур референт-штамів до дії досліджуваних об'єктів. Отримані дані підтверджують перспективність подальшої розробки складу та технології ветеринарного препарату для лікування інфекційних уражень вимені на основі бінарного поєднання ципрофлоксацину гідрохлориду та настойки прополісу 20%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева А.В. Апітерапія: погляд у майбутнє // *Матер. II з'їзду апітерапевтів України, Харків, 31 жовт. - 1 листоп. 2002 р.* — X., 2002. — С. 165.
2. Гайдамака А. // *Сучасна ветеринарна медицина.* — 2005. — №5. — С. 40.
3. Музика В., Стетсько Т., Косенко Ю. // *Науково-технічний бюл.* — 2006. — Вип. 7, №1, 2. — С. 17-24.
4. Студенцов А.П., Шипилов В.С., Субботина Л.Г., Преображенский О.Н. *Ветеринарное акушерство и гинекология* / Под ред. В.С.Шипилова. — 6-е изд., испр. и доп. — М.: Агропромиздат, 1986. — 480 с.
5. Тихонов О.І., Ковальова О.О., Сілаєва Л.Ф. // *Запорожский мед. журн.* — 2008. — №5. — С. 68-70.
6. Bankova V. // *J. of Apiprodukt and Apimedical Sci.* — 2009. — Vol. 1, №2. — P. 23-28.
7. Bruinsma N., Stobberingh E., Smet P. // *Infection.* — 2003. — Vol. 31. — P. 9-14.
8. Bryan J. // *The Pharmac. J.* — 2008. — Vol. 280. — P. 187-188.
9. Hepburn H.F., Chen L.Y., Radloff S.E. // *J. Ethnopharmacol.* — 2005. — Vol. 100. — P. 276-283.
10. Yaghoubi S.M., Ghorbani G.R., Soleimani Z.S. // *DARU.* — 2007. — Vol. 15. — P. 45-48.

УДК 615.453:618.14-002:619:579]001.5

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА ГИДРОХЛОРИДА И НАСТОЙКИ ПРОПОЛИСА 20%

Л.А.Бондаренко, А.И.Тихонов, О.А.Ковалева

С целью проведения последующей экспериментальной работы по разработке состава и технологии ветеринарного препарата для лечения инфекционных поражений вымени крупного рогатого скота исследованы антибактериальные свойства ципрофлоксацина гидрохлорид, настойки прополиса 20% и вспомогательного вещества спирта этилового 96%.

UDC 615.453:618.14-002:619:579]001.5

THE STUDY OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CIPROFLOXACIN HYDROCHLORIDE AND 20% PROPOLIS TINCTURE

L.O.Bondarenko, O.I.Tikhonov, O.O.Kovalyova

With the purpose of conducting of the further experimental work in creating the composition and the formulation of the veterinary medicine for treating infectious damages of the cattle under the antimicrobial properties of ciprofloxacin hydrochloride, 20% propolis tincture and 96% ethanol as an additive have been studied.