ФАРМАКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ОРНІДАЗОЛУ

Л.О.Бобрицька, К.Г.Жемерова, О.В.Дунай**

Національний фармацевтичний університет
Державне підприємство "Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції"*

Ключові слова: протозойні захворювання; орнідазол; таблетки "Мерадазол"; гостра токсичність; антимікробна активність

Представлені результати вивчення параметрів гострої токсичності та специфічної фармакологічної активності препарату "Мерадазол". Показник гострої токсичності ЛД50 досліджуваного препарату становить 1350 (1258÷1441) мг/кг, що свідчить про його належність до групи "малотоксичних речовин". Антимікробну активність препаратів вивчали у дослідах in vitro методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі. Цей метод дозволяє дати кількісну оцінку антимікробної активності досліджуваних препаратів. Встановлено, що досліджуваний препарат має виражену антимікробну дію у відношенні еталонних штамів анаеробних бактерій роду Clostridium. За даними методу МІК препарату по відношенню до більшості штамів клостридій складає 0,49-1,97 мкг/мл. У цілому параметри гострої токсичності та специфічної фармакологічної активності препарату "Мерадазол" відповідають препарату порівняння "Тиберал" (F.Hoffmann-La Roche Ltd, Швейцарія).

Розробка нових ефективних засобів для лікування протозойних інфекцій, зокрема трихомоніазу, амебіазу та лямбліозу є важливим етапом збереження здоров'я статевозрілого населення. Адже, за даними ВООЗ, трихомоніазом уражено близько 10% населення, в окремих соціальних групах рівень захворюваності досягає 40%, лямбліоз віднесено до найбільш важливих для суспільної охорони здоров'я захворювань [2, 8, 9].

Існує великий арсенал швидкодіючих та ефективних антипротозойних засобів, серед яких важливе місце займають лікарські препарати похідні нітроімідазолу, а саме метронідазол, тинідазол, орнідазол тощо. Висока ефективність цих препаратів обумовлена особливостями механізму антимікробної дії та досить швидким бактерицидним ефектом, фармакокінетичними властивостями, які забезпечують високі концентрації діючої речовини препарату в крові та тканинах організму протягом значного проміжку часу [5, 11].

Сучасним і ефективним антипротозойним препаратом з даної групи є орнідазол, одноразовий прийом якого гарантує елімінацію збудника у хворих з неускладненим трихомоніазом. Орнідазол активний щодо Trichomonas vaginalis, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia (Giardiaintestinalis), а також деяких анаеробних бактерій, таких як Bacteroides, Clostridium spp., Fusobacterium spp. та анаеробних коків. При цілеспрямованій розробці даного препарату були поліпшені його фармакокінетичні характеристики, а саме: максимальна концентрація в крові досягається протягом 3 годин і становить 6-36 мг/л; збільшено період знаходження в крові терапевтичної концентрації; зменшено зв'язок з білками плазми, що призводить до підвищення біодоступності (близько 90%) [7, 10].

На ринку України антипротозойні лікарські засоби у переважній більшості представлені закордонними препаратами, тому існує необхідність створення ефективних, безпечних та доступних за ціною вітчизняних антипротозойних лікарських засобів.

Мета роботи полягала у доклінічному вивченні параметрів гострої токсичності та специфічної фармакологічної активності препарату "Мерадазол" та порівнянні його з референт-препаратом "Тиберал", таблетки по 500 мг, покриті оболонкою, виробництва F. Hoffmann-La Roche Ltd, Швейцарія.

Матеріали та методи

Вивчення гострої токсичності таблеток "Мерадазол" та референс-препарату проводили на білих нелінійних статевозрілих мишах обох статей масою 20-26 г,

Л.О.Бобрицька — канд. фармац. наук, доцент кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

К.Г.Жемерова — канд. фармац. наук, завідувачка лабораторії мікробіологічних досліджень Державного підприємства "Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції" (м. Харків)

Таблиця 1

Кількісні параметри гострої токсичності таблеток "Мерадазол" та референс-препарату "Тиберал", n = 12

Препарат	Доза, мг/кг	Кількість тварин, що загинули		$ЛД_{50}$, мг/кг
		кількість тварин	%	
Мерадазол	1000	0	0	1350 (1258÷1441)
	1250	1	16,7	
	1400	4	67,7	
	1600	6	100	
Тиберал	1000	0	0	1494 (1327÷1662)
	1250	1	16,7	
	1400	2	33,3	
	1600	4	67,7	

Примітка. * — p>0,05 достовірність результатів по відношенню до референс-препарату

які утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію при вільному доступі до води при постійній вологості та температурному режимі [3, 4].

За 16-18 годин до початку експерименту мишей позбавляли їжі, залишаючи вільний доступ до води. Досліджувані препарати вводили мишам одноразово натщесерце внутрішньошлунково у вигляді водної суспензії у дозі 1000, 1250, 1400 та 1600 мг/кг (за орнідазолом). Протягом 14 днів реєстрували час розвитку інтоксикації за клінічними ознаками, зміною маси тіла тварин та їх смертю, причому перші 6 годин тварини знаходилися під постійним контролем. Клінічні спостереження включали: зовнішній стан мишей, особливості їх поведінки, інтенсивність і характер рухової активності, пілоерекцію, стан шкірного покриву, зміну дихання, вживання води та корму, а також інші показники, які можуть бути використанні для оцінки токсичності досліджуваних препаратів [3]. Масу тіла тварин визначали до початку дослідження, а також на 3, 7 та 14 добу експерименту.

Середню смертельну дозу таблеток "Мерадазол" та референс-препарату "Тиберал" розраховували за методом Б.М.Штабського та співавторів [6] шляхом регресійного аналізу, який дозволяє зробити кількісну оцінку рівня токсичності фармакологічних речовин.

Антимікробну активність таблеток "Мерадазол" та референт-препарату "Тиберал" вивчали у дослідах in vitro методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі [1].

Для оцінки активності досліджуваних препаратів використовували референтні тест-штами анаеробних бактерій, отримані ФДБУ "Державний науково-дослідний інститут стандартизації та контролю медичних біологічних препаратів ім. Л.О.Тарасевича" МОЗ Російської Федерації: Clostridium sporogenes 272, Clostridium septicum 503, Clostridium noyvi (oedematiens) mun c №198. Тест-штами вирощували у тіогліколевому середовищі під шаром вазеліну при температурі 35°С протягом 24-72 годин. На початку дослідження перевіряли чистоту кожної культури, а також їх типові властивості за морфологічними і культуральними ознаками.

Метод серійних розведень у рідкому поживному середовищі дозволяє дати кількісну оцінку антимікробної активності досліджуваних препаратів. Поживне тіогліколеве середовище регенерували шляхом нагрівання на водяній бані та швидкого охолодження до кімнатної температури. Робочі розчини досліджуваних препаратів з концентрацією від 50 мкг/мл до 0,098 мкг/мл готували методом послідовних двократних розведень у тіогліколевому середовищі. Стандарт посівної культури встановлювали за оптичним стандартом каламутності. У кожну пробірку, включаючи контрольну, що не містила досліджуваного лікарського засобу, вносили по 0,1 мл приготованої культури тест-штаму з розрахунку 10^7-10^8 КОЕ/мл. Після інокуляції в кожну пробірку додавали по 2-3 мл стерильного вазелінового масла. Інкубування проводили у термостаті протягом 24-72 години при 35°С. Результати відмічали за наявністю або відсутністю помутніння середовища у пробірках, що містять різні концентрації досліджуваного препарату. Мінімальна концентрація препарату у пробірці із прозорим середовищем (відсутність росту тест-мікроорганізму) відповідає мінімально інгібуючій концентрації препарату (МІК). Випробування проводили тричі. МІК по відношенню до кожного з тест-мікроорганізмів визначали як середнє геометричне значення результатів трьох випробувань.

Результати та їх обговорення

Результати кількісної оцінки параметрів гострої токсичності (табл. 1) свідчать, що при введенні досліджуваного та референтного препаратів клінічна симптоматика інтоксикації тварин протягом перших 2-6 годин характеризується дозозалежним порушенням рухової активності (атаксія, включаючи прострацію), уповільненим диханням, спазмами, клонічними судомами і летальними наслідками в першу добу спостережень. Причому введення препарату у дозі 1000 мг/кг не призводить до загибелі тварин, яка спостерігається у разі збільшення дози до 1250 мг/кг, 1400 мг/кг (більшість тварин загинули на другу добу експерименту) та 1600 мг/кг (всі тварини загинули протягом перших 6 годин).

Дані табл. 1 свідчать, що при внутрішньошлунковому введенні досліджуваного препарату "Мерадазол" та референт-препарату "Тиберал" у дозі 1000, 1250, 1400 та 1600 мг/кг (за орнідазолом) спостерігається подібна клінічна симптоматика гострої інтоксикації в ті ж самі часові проміжки.

Середня смертельна доза таблеток "Мерадазол" становить 1350

Таблиця 2

Антимікробна дія таблеток "Мерадазол" та референс-препарату "Тиберал"

Тест-штам	МІК, мкг/мл		
	мерадазол	тиберал	p
Clostridium sporogenes 272	50	50	>0,05
Clostridium septicum 503	1,97	1,97	>0,05
Clostridium noyvi (oedematiens) mun C №198	0,49	0,49	>0,05

(1258÷1441) мг/кг, а отже лікарський засіб належить до групи "малотоксичних речовин" у відповідності з класифікацією токсичності хімічних речовин.

Результати досліджень антимікробної активності (табл. 2) свідчать, що досліджуваний препарат чинить виражену антимікробну дію у відношенні референтних тест-штамів анаеробних бактерій роду Clostridium на рівні референс-препарату. Найбільшу чутливість до препарату виявив тест-штам Clostridium noyvi (oedematiens) mun C №198.

Значення МІК досліджуваного та референтного препарату співпадають і свідчать про їх антимікробну дію по відношенню до анаеробних бактерій, що узгоджується з даними літератури про антимікробну активність орнідазолу (0,1-1,6 мкг/мл) [4, 5].

У цілому одержані результати свідчать про те, що препарат "Мерадазол" у формі таблеток, вкритих оболонкою, є активним антимікробним засобом з низькою токсичністю.

ВИСНОВКИ

1. Проведено вивчення параметрів гострої токсичності та специфічної фармакологічної активності препарату "Мерадазол", таблетки по 500 мг, покриті оболонкою, розробленого ВАТ "Фітофарм".

2. Встановлено, що смертельна доза досліджуваного препарату становить 1350 (1258÷1441) мг/кг, а отже відповідно до класифікації токсичних хімічних речовин він належить до групи "малотоксичних речовин" ($ЛД_{50}$ 500-5000 мг/кг). За рівнем смертності та клінічної картини інтоксикації препарат "Мерадазол" подібний до референс-препарату "Тиберал".

3. Встановлено, що досліджуваний препарат має виражені антимікробні властивості у відношенні референтних тест-штамів анаеробних бактерій роду Clostridium.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Волянський Ю.Л., Грищенко І.С., Широбоков В.П. та ін. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: Метод. рекоменд. — К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2004. — 39 с.*
2. *Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Рыбалкин С.Б. и др. Урогенитальный трихомониаз: Пособ. для врачей [Электронный ресурс]. — Режим доступа: http://medi.ru/doc/a210221.htm.*
3. *Коваленко В.Н., Стефанов А.В., Максимов Ю.Н., Трахтенберг И.М. Доклинические исследования лекарственных средств. — К., 2001. — С. 78-107.*
4. *Овчинникова А.К., Кремнева В.Ф. Фармакология антипротозойных средств. — М., 1990. — 163 с.*
5. *Падейская Е.Н. //Consilium Medicum. — 2000. — Т. 2, №4. — С. 32-35.*
6. *Штабский Б.М., Гжегоцкий М.И., Гжегоцкий М.Р. и др. //Гигиена и санитария. — 1980. — №10. — С. 49-51.*
7. *Freeman C.D., Lamp K.C., Klutman N.E., Lacy M.K. //J. Clin. Pharmacokinet. — 1999. — Vol. 38. — P. 763-767.*
8. *Inceboz T., Inceboz U., Ozturk S. //J. Chemother. — 2004. — Vol. 16. — P. 459-462.*
9. *Meri T., Jokiranta T.S., Suhonen L., Meri S. //J. Clin. Microbiol. — 2000. — Vol. 38. — P. 763-767.*
10. *Ornidazole: Quality control certificate of analysis / Suyash Laboratories. — Mumbai,2008. — P. 1.*
11. *Schmid G.P., Narcisi E.M., Mosure D. //J. Reprod. Med. — 2001. — Vol. 46. — P. 545-549.*

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-88-52.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 11.04.2011 р.