

Рекомендована д.б.н., професором Л.М.Ворониною

УДК 615.454.12:616-0.01.45:547.288.15

МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ПРИДАТНОСТІ ХЛОРОФІЛІПТУ ДЛЯ СТВОРЕННЯ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ АНТИІНФЕКЦІЙНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ

І.Л.Дикий, В.М.Остапенко, Н.І.Філімонова,
О.Г.Гейдеріх, В.В.Ковальов

Національний фармацевтичний університет

Проведено мікробіологічне обґрунтування доцільності нової лікарської форми хлорофіліпту — мазі для лікування гнійно-запальних захворювань стафілококової етіології. Доведено, що оптимальною за виявленими антимікробними властивостями є 3% концентрація густого екстракту хлорофіліпту у складі мазі. При виборі основи доведено, що гідрофобні компоненти інактивують, емульсійні — не впливають, а силиви ПЕО-400 та ПЕО-1500 синергійно посилюють антимікробні властивості діючої речовини у складі відповідних зразків мазей.

Одним з пріоритетних напрямків у розвитку сучасної антибіотикотерапії визнано послідовну заміну у клінічному використанні антибіотиків перших поколінь терапевтичними антисептиками [1, 5, 6, 13]. До безперечних переваг антисептиків відноситься відмінність механізмів дії на мікробну клітину, що нівелює розбіжності в рівні антимікробної дії по відношенню до чутливих та антибіотикорезистентних збудників, вибіркова або переважна мікробцидна активність, відсутня або уповільнена селективна здатність щодо формування лікарськостійких штамів [1, 13].

Серед визначених антисептиків природного походження клінічне визначення за хіміотерапевтичною ефективністю набув хлорофіліпт. Одержаний з листя евкаліпту кулястого або прутовидного, хлорофіліпт відрізняється спрямованою бактерицидною та бактериостатичною активністю до антибіотикочутливих, антибіотикорезистентних та антибіотикозалежних штамів стафілококів, не виявляє селективної здатності у формуванні відповідної або множинної лікарської стійкості та характеризується спрямованістю до R-плазмід множинної лікарської стійкості. Хлорофіліпт випускається у вигляді 0,25% та 1% спиртового розчинів, а також 2% олійного розчину, з успіхом використовується при органних та генералізованих стафілококових інфекціях, включаючи післяопераційні, післяпологові, післяабортні усклад-

нення, при стафілококовій септикопемії, бешисі, захворюваннях шлунково-кишкового тракту, урогенітальних патологіях та ін. Разом з означеними захворюваннями стафілококи етіологічно обумовлюють широке коло гнійно-запальних захворювань шкіри та слизових оболонок [4, 7-12, 14]. Клінічним досвідом доведено, що найбільш ефективними засобами лікування дерматитів, у тому числі й стафілококової походження, служать препарати зовнішнього контактного призначення, тобто мазі, лініменти тощо. Останнє обумовлює доцільність розробки мазі для лікування стафілококових дерматитів. При цьому для вирішення за технологічними ознаками принципове значення представляло визначення оптимального добору основи, що за фізико-хімічними властивостями відповідає хлорофіліпту, а за мікробіологічними — стале збереження субстанцією хлорофіліпту у складі мазі вихідного рівня антистафілококової активності або її синергійне посилення за рахунок активних компонентів основи.

Вирішенню зазначених питань і підпорядковане представлено повідомлення.

Матеріали та методи

Як об'єкт дослідження використана субстанція хлорофіліпту у вигляді густого екстракту. Лімітні рівні бактериостатичної та бактерицидної антистафілококової активності використаної субстанції хлорофіліпту оцінені по відношенню до референтного штаму *S. Aureus* ATCC-25923 та стійкого до метициліну штаму *S. Aureus* 184/15. Для дослідження використані розчини, які вміщують емульгати екстракту хлорофіліпту у твіні-80. Бактеріостатичні властивості хлорофіліпту оцінені методом двократних серійних розведень, а бактерицидні — методом висіву на агар з пробірок, у яких візуально не зареєстровано ознак бактеріального росту [2, 3].

Результати та їх обговорення

Антистафілококова активність існуючих лікарських форм хлорофіліпту переконливо доведена багаторічним клінічним досвідом у лікуванні орган-

Таблиця 1

Мікробіологічне обґрунтування вибору оптимальної концентрації хлорофіліпту для включення до складу мазі, n=6

Концентрація розчину хлорофіліпту, %	Штам, чутливість до антибіотиків	Антистафілококова активність у кратних розведеннях		M1-M2	P
		Бактеріостатична (M1)	Бактерицидна (M2)		
0,1	чутливий	32,0±1,4	6,2±0,4	25,8	< 0,05
	стійкий	28,5±1,2	6,0±0,7	22,5	< 0,05
0,5	чутливий	43,6±2,8	10,5±1,6	33,1	< 0,05
	стійкий	36,2±2,4	8,3±1,5	27,9	< 0,05
1,0	чутливий	62,5±3,0	40,6±2,5	21,9	< 0,05
	стійкий	57,2±2,5	32,0±2,7	25,2	< 0,05
1,5	чутливий	90,4±4,2	73,0±3,2	20,4	< 0,05
	стійкий	82,3±4,4	55,6±2,5	26,7	< 0,05
2,0	чутливий	105,5±6,3	83,3±5,2	22,2	> 0,05
	стійкий	96,3±6,8	68,5±5,7	27,8	> 0,05
2,5	чутливий	124,3±7,2	106,3±6,7	18,0	> 0,05
	стійкий	116,7±5,5	92,4±6,3	24,3	> 0,05
3,0	чутливий	132,4±6,7	118,5±8,2	14,2	> 0,05
	стійкий	122,4±5,4	106,2±7,3	16,1	> 0,05
3,5	чутливий	135,5±10,4	127,4±6,3	8,1	> 0,05
	стійкий	128,2±8,7	110,5±8,5	17,7	> 0,05

Примітка: розчини густого екстракту хлорофіліпту випробувані у вигляді емульсії з твіном-80.

них та генералізованих гнійно-запальних захворювань, внаслідок чого не потребує додаткового мікробіологічного дослідження. Разом з тим недоліком існуючої номенклатури лікарських форм хлорофіліпту з огляду на поширеність стафілококових дерматитів, бешихи, пухирчатки немовлят та ін. слід вважати відсутність відповідних м'яких лікарських форм.

У зв'язку з цим метою запланованого мікробіологічного дослідження стало принципове визначення питання придатності хлорофіліпту для створення препаратів зовнішнього (контактного) призначення. Першочерговим при цьому було встановлення концентраційного вмісту хлорофіліпту у складі розроблюваної мазі. Мікробіологічно обґрунтованим критерієм прийнята така мінімальна концентрація хлорофіліпту, яка при нівелюванні значущих розбіжностей у рівнях вияву бактеріостатичної та бактерицидної активності забезпечує переважну мікробіцидну дію.

Результати проведених досліджень узагальнені у табл. 1.

З аналізу дослідних даних видно, що у випробуваних розчинах у концентраційному діапазоні 0,1-3,5% хлорофіліпт виявляє певні рівні рівноцінно вираженої бактеріостатичної та бактерицидної активності по відношенню до чутливих та стійкого до метициліну штамів золотавого ста-

філокока. Одночасно встановлено, що у початкових концентраціях розчини хлорофіліпту виявляють виражену, концентраційно-залежну бактеріостатичну активність. Доведено, що у вихідній концентрації 0,1% бактеріостатична активність розчину хлорофіліпту у середньому в 4,9 рази перевищувала його відповідну бактерицидну здатність по відношенню до використаних штамів золотавого стафілокока. Первинно встановлені розбіжності у рівнях виявлення бактеріостатичних та бактерицидних властивостей зберегли статистичну достовірність при випробуванні розчинів з відповідним вмістом екстракту хлорофіліпту у концентраціях 0,5%, 1% та 1,5% (табл. 1).

Теорія та практика сучасної антибіотикотерапії переконливо свідчить про те, що антимікробні препарати з вибірковыми або переважними бактеріостатичними властивостями характеризуються обмеженою перспективністю щодо довготермінового клінічного використання. Останнє принципово пов'язане із закономірною наявністю у таких препаратів вираженої селективної здатності щодо уповільненого або інтенсивного формування у мікроорганізмів відповідної або множинної лікарської стійкості. З оглядом на викладене слід вважати обґрунтованим недоцільність використання зазначених концентрацій густого екстракту хлорофіліпту при розробці складу та технології

Таблиця 2

Вплив основи на антистафілококову активність зразків мазей з екстрактом хлорофіліпту, n=6

Склад мазі	Мікробіцидна активність	
	S. Aureus ATCC-25923	S. Aureus 184/15
Екстракт хлорофіліпту 3,0 Вазелін до 100,0	0	0
Екстракт хлорофіліпту 3,0 Вазелін/ланолін до 100,0	0	0
Екстракт хлорофіліпту 3,0 Основа Кутумова до 100,0	10,3±0,6	12,5±1,0
Екстракт хлорофіліпту 3,0 Емульсійна основа о/в до 100,0	14,6±1,2	12,0±0,8
Екстракт хлорофіліпту 3,0 ПЕО-400/ПЕО-1500 (8:2) до 100,0	21,0±1,0	19,6±0,6
Екстракт хлорофіліпту 3,0 ПЕО-400/ПЕО-1500 (7:3) до 100,0	23,5±1,2	22,3±0,9
Екстракт хлорофіліпту 3,0 ПЕО-400/ПЕО-1500 (6:4) до 100,0	27,2±1,3	26,5±0,7
Екстракт хлорофіліпту 3,0 (Контроль)	14,2±0,8	13,6±1,2

Примітка: * — розбіжності у рівнях активності достовірні по відношенню до контролю.

відповідної мазі. Разом з цим відомо, що в оптимально діючих концентраціях хлорофіліпту як антисептик спрямованої антистафілококової дії відрізняється не тільки за відповідними мікробіцидними властивостями, але й упередженням розвитку у стафілококів відповідної лікарської стійкості. Тому метою подальшого тестування було визначення саме такої концентрації густого екстракту хлорофіліпту з рекомендацією її використання у розроблюваному складі мазі.

Дослідженням встановлено, що починаючи з концентрації 2%, густий екстракт хлорофіліпту виявляє переважно мікробіцидні властивості по відношенню до чутливих та антибіотикорезистентних штамів золотавого стафілокока. Принциповим висновком є те, що у складі мазі густий екстракт хлорофіліпту може бути використаний у концентраціях 2,0-3,5%. Разом з цим аналіз даних табл. 1 свідчить, що із зростанням концентрації пропорційно зростає мікробіцидна активність густого екстракту хлорофіліпту і сягає оптимального своєї вираженості при концентрації 3,0%. На користь останнього свідчить відсутність статистично значущих розбіжностей при порівняльному співставленні мікробіцидної активності розчину хлорофіліпту 3,0% та 3,5%.

З технологічної точки зору не менш важливим є встановлення оптимальної сумісності між речовиною та основою у складі мазі. Принциповими критеріями обґрунтування вибору стало врахуван-

ня її технологічної здатності як мінімум не виявляти негативного впливу на вихідні рівні антимікробних властивостей екстракту хлорофіліпту та як максимум синергійно посилювати антистафілококову активність діючої субстанції за рахунок активних компонентів у складі основи.

У порівнюваних дослідженнях на вираженість антистафілококової активності екстракту хлорофіліпту випробувані зразки мазей, які як основу відповідно вміщували вазелін, суміш вазеліну з ланоліном, емульсійні основи вода в олії та олія у воді, сплави ПЕО-400/ПЕО-1500 у співвідношеннях 8:2, 7:3 та 6:4. При цьому, враховуючи результати проведеного мікробіологічного скринінгу, оптимальною для включення до складу випробуваних зразків мазей з гідрофобними та гідрофільними основами був використаний густий екстракт хлорофіліпту у концентрації 3%.

При мікробіологічному аналізі антистафілококової активності порівнюваних зразків мазей принциповим висновком стало підтвердження технологічної непридатності гідрофобних основ для рецептурного суміщення з густим екстрактом хлорофіліпту у складі мазі. На користь цього свідчать те, що у присутності гідрофобних основ зразки мазей з екстрактом хлорофіліпту втрачали антимікробні властивості по відношенню як до чутливих, так і до стійких до метициліну штамів стафілокока (табл. 2). Останнє можна пояснити, з одного боку, як показник технологічної несумісності між основою та діючою речовиною, а з іншого — як результат реакційної взаємодії між екстрактом хлорофіліпту та гідрофобними основами. На відміну від цього випробувані емульсійні основи виявилися індиферентними по відношенню до притаманних екстракту хлорофіліпту дозовідповідних рівнів антистафілококової активності (табл. 2). При випробуванні як основи сплавів з різними співвідношеннями між ПЕО-400 та ПЕО-1500 простежено синергійне посилення вихідних рівнів діючої субстанції у складі відповідних зразків мазей в середньому у 1,7 рази. Хоча у випробуваних співвідношеннях між ПЕО-400 та ПЕО-1500 не виявлено остаточно значущих розбіжностей, дані табл. 2 свідчать про тенденції до синергійного посилення основами вихідної антистафілококової активності екстракту хлорофіліпту у складі мазей у відповідних сплавах зі співвідношеннями 8:2, 7:3, 6:4. При цьому закономірність посилення сплавами основи вихідної антистафілококової активності хлорофіліпту пояснюється наявністю у ПЕО-400 та ПЕО-1500 супутніх антимікробних властивостей.

ВИСНОВКИ

1. Мікробіологічно обґрунтована технологічна придатність густого екстракту хлорофіліпту як діючої речовини для створення мазей антистафілококового призначення при лікуванні гнійно-запаль-

них захворювань шкіри та інфекційно обтяжених ранових процесів

2. Встановлено, що за вираженістю антистафілококових властивостей оптимальною для використання у складі мазей є 3% концентрація густого екстракту хлорофіліпту.

3. Доведено, що гідрофобні основи мікробіологічно не сумісні з густим екстрактом хлорофіліпту, емульсійні (в/о та о/в) — індіферентні, а сплави ПЕО-400 та ПЕО-1500 синергічно спроможні посилювати вихідні рівні антистафілококової активності діючої речовини у складі мазі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афанасьєва Т.И. Антибиотики и химиотерапия. — 1998. — Т. 43, №6. — С. 29-31.
2. Государственная фармакопея СССР. — 11-е изд. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное сырье. — М.: Медицина, 1990. — С. 210-225.
3. Державна фармакопея України/Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
4. Жединский Н.В. // Травма. — 2000. — Т. 1, №1. — С. 63-67.
5. Кресильников А.П. Справочник по антисептике. — Мн.: Вышейш. школа, 1995. — 367 с.
6. Палій Г.К. Антисептики у профілактиці і лікуванні інфекцій. — К.: Здоров'я, 1997. — 193 с.
7. Adam D.J. // J. Hand. Surg. — 1996. — Vol. 21, №6. — P. 792-794.
8. Alteyr P. Wound Healing and Skin Physiology. — Berlin: Springer, 1995. — 717 p.
9. Anstey A.V. // J. Am. Acad. Dermatol. — 1997. — Vol. 36, №5. — P. 802.
10. Callen J.P. // Lancet. — 1998. — Vol. 21, №5. — P. 581-585.
11. Danielsen L. // Wound care. — 1997. — Vol. 6, №7. — P. 308-309.
12. Edwards V.M. // Infect immune. — 1997. — Vol. 65, №6. — P. 2346-2352.
13. Ferrara A. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. — 1997. — Vol. 17, №7. — P. 535-537.
14. Verma A. // Natl. Med. J. India. — 1997. — Vol. 10, №5. — P. 255.

УДК 615.454.12: 616-0.01.45:547.288.15

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИГОДНОСТИ ХЛОРОФИЛЛИПТА ДЛЯ СОЗДАНИЯ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ АНТИИНФЕКЦИОННОГО НАЗНАЧЕНИЯ

И.Л.Дикий, В.Н.Остапенко, Н.И.Филимонова, О.Г.Гейдерих, В.В.Ковалёв

Проведено мікробіологічне обґрунтування цeлeсoбpaзнoстi ствoрeння нoвoї лeкapствeннoї фoрми хлoрoфiлiптa — мaзi для лeчeння гнoйнo-вoспaлiтeльнoх зaбoлeвaнь стaфiлoкoккoвoї eтioлoгiї. Дoкaзaнo, щo oптимaльнoю пo пpоявлeнню aнтимiкpoбнoх свoйств являeтcя 3% кoнцeнтpaцiя гyстoгo eкcтpaктa хлoрoфiлiптa в cтaвe мaзi. Пpи пoдбoрe oснoви дoкaзaнo, щo гiдрoфoбнi кoмпoнeнтi iнaктивyють, eмyльcиoннi — нe влiяють, a cплaви ПЕО-400 i ПЕО-1500 cинepгiчнo yсилюють пpoтивoмiкpoбнy aктивнoсть дeйcтвyючoх вeщeств в cтaвe cooтвeтcтвyючoх oбpaзцoв мaзi.

UDC 615.454.12: 616-0.01.45:547.288.15

MICROBIOLOGICAL SUBSTITUATION OF THE TECHNOLOGY FOR CHLOROPHILIPT AVAILABILITY FOR CREATING SOFT MEDICINAL FORM OF ANTI-INFECTIION APPLICATION

I.L.Diky, V.N.Ostapenko, N.I.Filimonova, O.G.Geyderikh, V.V.Kovalyov

A microbiological substantiation of the expediency for creating a new medicinal form of chlorophyllipt — an ointment for treating pus inflammatory diseases of staphylococcus etiology — has been carried out. It has been proven that 3% concentration of a dense chlorophyllipt extract in the composition of the ointment is optimal for its antimicrobial properties. While choosing a base the hydrophobic components have been proven to inactivate, the emulsion ones do not affect and PEO-400/PEO-1500 alloys enhance synergically antimicrobial properties of the acting substances in the composition of the corresponding samples of the ointment.