

Рекомендована д.ф.н., професором В.І.Чуєшовим

УДК 615.28.9:615.456].012

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ДОПОМІЖНИХ РЕЧОВИН НА АНТИМІКРОБНУ ДІЮ КОМБІНОВАНОГО ІН'ЄКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ

В.О.Шевченко, Н.Ю.Шевельова, С.О.Тихонова, А.О.Шевченко

Національний фармацевтичний університет

Проведено комплекс мікробіологічних досліджень з метою вивчення антимікробної активності комбінованого ін'єкційного лікарського засобу на основі сульфаметоксазолу та триметоприму. Проаналізовано вплив компонентів на антимікробну активність препарату.

Особлива роль у терапії захворювань органів дихання належить комбінованому сульфаніламідному препарату, що складається із сульфаметоксазолу та триметоприму.

Фармакологічний ефект даної комбінації обумовлений подвійною дією препарату, що блокує метаболізм бактерій. Сульфаметоксазол порушує синтез дигідрофолієвої кислоти в бактеріальних клітинах, а триметоприм перешкоджає перетворенню дигідрофолієвої кислоти на тетрагідрофолієву. Перевага комбінації триметоприму із сульфаметоксазолом пояснюється їх однаковою швидкістю елімінації. Високі концентрації препарату створюються у тканинах легень, нирок, передміхурової залози, у спинномозковій рідині, жовчі, кістах [2, 6, 15, 18].

Препарат активний у відношенні більшості грам-позитивних мікроорганізмів: коків — *Staphylococcus* spp. (у тому числі продукуючих пеніциліназу), *Streptococcus* spp. (у тому числі *Streptococcus pneumoniae*); бактерій — *Corynebacterium diphtheriae*; грамнегативних мікроорганізмів: коків — *Neisseria gonorrhoeae*; бактерій — *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Yersinia* spp., *Vibrio cholerae*, *Haemophilus influenzae*; анаеробних неспороутворюючих бактерій — *Bacteroides* spp; у відношенні *Chlamydia* spp. [8, 11, 16].

Крім високої ефективності при інфекційно-запальних захворюваннях дихальних шляхів, викликаних чутливими до препарату мікроорганізмами (гострий бронхіт, загострення хронічного бронхіту, пневмонія, емпієма плеври, абсцес легені), препарат показаний для лікування фарингіту, тонзиліту, отиту, респіраторних інфекцій, пієлонефриту, циститу, уретриту, простатиту, захворювань ШКТ, ранових і хірургічних інфекцій [14, 17].

У перелік життєво важливих лікарських засобів (Essential Drugs List), що рекомендуються ВООЗ, відсутність яких створює реальну небезпеку для життя пацієнтів, ввійшли парентеральні форми комбінації сульфаметоксазолу та триметоприму для пацієнтів, для яких неможлива оральна терапія [2, 5].

Тому особлива увага приділялась розробкам композицій триметоприму із сульфаніламидами для парентерального застосування та одержання їх розчинних форм [10, 19].

Мала розчинність сульфаніламідних сполук у воді робить їх непридатними для парентерального введення та ускладнює їх фармакологічні дослідження та застосування. Переведення цих сполук у форму розчинів вимагає вивчення різних підходів до вирішення цієї проблеми.

Одним зі шляхів поліпшення розчинності є застосування речовин різної хімічної природи. Найбільш часто для підвищення розчинності використовують циклодекстрини, полівінілпіролідон, пропіленгліколь, етанол, гліцерин, поліетиленгліколь (ПЕГ 300 або ПЕГ 400), а також можливість розчинення сульфаніламідних сполук у присутності лугів і солей неорганічних і органічних кислот [9, 13].

Хімічна стабільність розчину досягається введенням у нього допоміжних речовин, що запобігають гідролітичному розкладанню основних компонентів розчину, випадання осадів і інших негативних процесів. Допоміжні речовини можуть виконувати функції стабілізаторів, антиоксидантів, комплексоутворювачів, солюбілізаторів. Одним з розповсюджених методів стабілізації ін'єкційних розчинів є використання суміші неводних розчинників [4, 12].

З урахуванням усіх факторів при розробці складу і технології комбінованого лікарського засобу на основі сульфаметоксазолу та триметоприму нами була використана композиція співрозчинників: вода — пропіленгліколь у співвідношенні (55:45) для розчинення триметоприму, одержання розчину сульфаметоксазолу у вигляді його натріє-

Таблиця 1

Дослідження антибактеріальної активності комбінованого препарату у порівнянні з референс-препаратом “Бісептол-480” в умовах *in vitro* на музейних штаммах мікроорганізмів

Препарат	МБстК / МБцК, мкг/мл		
	Тест-культури бактерій		
	S.aureus ATCC 25293	E.coli ATCC 25922	B.subtilis ATCC 6633
Комбінований препарат	62/500	15/125	>2000/—
Бісептол-480	62/500	62/250	>2000/—

вої солі з наступною її стабілізацією натрієм метобісульфітом і натрієм едетатом.

Метою нашої роботи стало вивчення антимікробної активності розробленого парентерального лікарського засобу у вигляді розчину в ампулах. Вивчення антибактеріальної активності препарату проводилося на базі кафедри мікробіології НФаУ доцентом Н.Ю.Шевельовою під керівництвом проф. І.Л.Дикого.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження був розчин для ін'єкцій, що містить сульфаметоксазол та триметоприм в ампулах по 5 мл. Референтним препаратом був обраний “Бісептол-480” (розчин для ін'єкцій, 5 мл) виробництва Варшавського фармацевтичного заводу “Польфа”, який є аналогом за вмістом діючих речовин.

З даних літератури [6, 7, 10] відомо, що комбінація сульфаметоксазолу і триметоприму забезпечує бактерицидну активність препаратів відносно грамнегативних і грампозитивних мікроорганізмів, у тому числі стійких до сульфаніламідів. Саме тому препарати, створені на основі сульфаметоксазолу у поєднанні з триметопримом, виявляють широкий спектр хіміотерапевтичної активності.

У наших дослідях, які проводились в умовах *in vitro*, вибір мікробного спектра обґрунтовувався літературними даними щодо чутливості збудників до дії комбінації сульфаметоксазолу і триметоприму (75% чутливих штамів у виді). Відповідно до Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [1, 8] в якості тест-культур мікроорганізмів використовували 9 штамів умовно патогенних бактерій, серед яких були як референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC

25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, отримані з Американської колекції типових культур (American Type Culture Collection — ATCC), так і клінічні штами бактерій, вилучені від хворих на кишкові і гнійно-запальні захворювання — *Escherichia coli* 77, *Proteus vulgaris* 123, *Proteus mirabilis* 023, *Enterobacter cloacae* 78, *Klebsiella pneumoniae* 18141, *Streptococcus mitis* 12.

Порівняльну оцінку антимікробної дії розробленого препарату та референс-препарату “Бісептол-480” здійснювали за допомогою методу дворазових серійних розведень у рідкому поживному середовищі, який на сьогоднішній день визнаний як кількісний і найбільш точний [1, 3].

Для характеристики активності препаратів використовували такі показники як МБстК (мінімальна бактериостатична концентрація, за якої пригнічується ріст бактерій), яка визначалась візуально у наскрізному світлі за останньою пробірною за відсутності видимого росту мікробних клітин, а також МБцК (мінімальна бактерицидна концентрація), для визначення якої здійснювали посіви з пробірок з видимою відсутністю росту тест-мікроба на відповідні тверді середовища.

Результати та їх обговорення

Результати порівняльного дослідження антибактеріальної активності обраних об'єктів представлені в табл. 1, 2.

Як видно з даних табл. 1, 2, розроблений препарат на основі сульфаметоксазолу та триметоприму виявляє порівняну з “Бісептолом-480” бактериостатичну і бактерицидну дію відносно штамів *S.aureus* ATCC 25293, *B.subtilis* ATCC 6633, *E. Coli* 77, *P. Mirabilis* 023, *E. Cloacae* 78, *K. Pneumoniae* 18141, *S. Mitis* 12. Разом із зазначеним привертає увагу більша вираженість (у 2 рази за бактериостатичним і бактерицидним ефектами) антимікробної дії запропонованого препарату порівняно із референтним відносно штамів *E.coli* ATCC 25922 і *P. Vulgaris* 123.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що представлені зразки нової лікарської форми комбінації сульфаметоксазолу і триметоприму за антимікробною активністю не поступаються відомому препарату “Бісептол-480”, який на сьогоднішній день застосовується у практичній медицині. Запропонований склад допоміжних речовин та оригінальна технологія, застосована при виготовленні комбінованого препарату, не лише не

Таблиця 2

Дослідження антибактеріальної активності комбінованого препарату у порівнянні з референс-препаратом “Бісептол-480” в умовах *in vitro* на клінічних штаммах мікроорганізмів

Препарат	Тест-культури бактерій, МБстК/МБцК, мкг/мл					
	E. coli 77	P. vulgaris 123	P. mirabilis 023	E. cloacae 78	K. pneumoniae 18141	S. mitis 12
Комбінований препарат	0,5/1,8	15/31	62/250	0,3/0,9	0,9/3,5	>2000/—
Бісептол-480	0,5/1,8	31/62	62/250	0,3/0,9	0,9/3,5	>2000/—

зменшують специфічну дію препарату порівняно з референтним, але й сприяють посиленню його антимікробної активності відносно тих штамів мікроорганізмів, які є збудниками досить широкого кола інфекційних уражень.

ВИСНОВКИ

1. Проведені дослідження антимікробної активності розробленого комбінованого лікарського

засобу для парентерального застосування показали, що препарат володіє вираженою антимікробною активністю і є ефективним засобом для антибактеріальної терапії.

2. Встановлено, що допоміжні речовини, які входять до складу препарату, потенціюють антимікробну активність комбінації сульфаметоксазолу з триметопримом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН У О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
2. Ко-тримоксазол и ципрофлоксацин: аспекты антибактериальной терапии // Ремедиум. — 2000. — №12. — С. 84-85.
3. Методические указания по применению унифицированных методов определения чувствительности микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам / МЗО СССР. — М., 1999. — 31с.
4. Пат. 743917 Австралия, МПК⁶ А 61 К 009/14. Compositions comprising microparticles of water-insoluble substances — Research Triangle Pharmaceuticals Ltd., Parikh Indu, Selvaraj Ulagaraj (Австралия). — №200034049. — Заявл. 10.05.2000. Оpubл.: 07.02.2002. — 6 с.
5. Пат. 2162497 Россия, А 61 К 9/20, А 61 Р 31/04. Твердая лекарственная форма на основе сульфаметоксазола и триметоприма / ОАО "Биосинтез" (Россия). — №2002113960/15. — Заявл.: 28.05.2002. Оpubл.: 10.01.2004. — 7 с.
6. Пат. 4705803 США, МПК⁷ А 61 К 031/335; А 61 К 031/135. Injection solution containing trimethoprim, sulfadimidine, sulfathiazoline and N-(2-amino-3,5-dibromo-benzyl)-N-methyl-cyclohexylamine hydrochloride — Boehringer Ingelheim vetmedica GmbH. — №09/25468. — Заявл.: 25.02.1998. Оpubл.: 12.05.2000; НПК 514/386. — 9 с.
7. Пат. 6159999 США, МПК⁷ А 61 К 31/425. Antimicrobial and antiseptic methods using antimicrobial composition. — Kurita Water Industries Ltd., Yagi Minoru, Aoki Tetsuya. — №09/216726. — Заявл.: 21.12.1998. Оpubл.: 12.12.2000; НПК 514/372. — 8 с.
8. Подейская Е.Н. Комбинированные антибактериальные препараты на основе производных сульфаниламида и диаминопиримидина / Новые лекарственные препараты. Сб. трудов ВНИХФИ. — М., 1999. — С. 94-104.
9. Реєстр лікарських засобів України, 2000 р.: Офіційне видання / За ред. О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 792 с.
10. Солдатенков А.Т., Коледина Н.М., Шендрок И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. 2 изд. испр. и доп. — М.: Мир, 2003. — 191 с.
11. Яковлев С.В. Клиническая химиотерапия бактериальных инфекций. — М.: Ньюдиамед, 1998. — 119 с.
12. Allegra L., Blasi F., Cosentinil R. et al. // Eur. Respir. J. — 1998. — 12 (Suppl. 28). — 2313 p.
13. Dagan R., Klugman K.P., Craig W.A., Baquero F. // J. Antimicrob. Chemother. — 2001. — №47. — P. 129-140.
14. Eller J., Ede A., Schaberg T. et al. // Chest. — 1998. — №113. — P. 1542-1548.
15. Goh S.K., Johan A., Cheong T.H., Wang Y.T. // Ann. Acad. Med. Singapore. — 1999. — №28. — P. 476-480.
16. Jouyban A., Khoubnasabjafari M., Chan Hak-Kim et al. // Chem. and Pharm. Bull. — 2002. — №1. — P. 21-25.
17. Molina M., Raschi A., Vallejo S., Yamin L. // Acta farm. bonaerense. — 2001. — №2. — P. 109-114.
18. Rote Liste. Arzneimittel Verzeichnis des Bundesverbandes der pharmazeutischen Industries e V. (BPI). — Ecv. edito cantor. — Aulendorf / wurtt. — 1999. — №78012. — P. 59-63.
19. Van V., Krikilion G., Rosier J., De Spiegeleer B. // Drug Dev. and Ind. Pharm. — 2001. — Vol. 27, №8. — P. 885-892.

УДК 615.28.9:615.456].012

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ НА АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ИНЪЕКЦИОННОГО ПРЕПАРАТА

В.А.Шевченко, Н.Е.Шевелева, С.А.Тихонова, А.А.Шевченко
Проведен комплекс microbiологических исследований с целью изучения антимикробной активности комбинированного инъекционного лекарственного средства на основе сульфаметоксазола и триметоприма. Проанализировано влияние компонентов на антимикробную активность препарата.

UDC 615.28.9:615.456].012

STUDY OF INFLUENCING MATTERS ON ANTIMICROBIAL ACTION OF THE COMBINED INJECTION PREPARATION

V.A.Shevchenko, N.Ye.Sheveleva, S.A.Tikhonova, A.A.Shevchenko
The complex of microbiological researches is conducted with the purpose of study of antimicrobial activity of combined of injection medication on the basis of sulfamethoxazole and trimethoprim. Influence of components is analyzed on antimicrobial activity of preparation.