

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ФЛУПЕТЦИДУ

М. М. Коваленко, канд. фарм. наук

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна

У статті представлено дані експериментальних досліджень протимікробної активності флупетциду, який представляє інтерес для ветеринарної медицини. Показано, що флупетцид виявляє протимікробну дію і доцільно продовжити його подальше доклінічне дослідження.

Ключові слова: ФЛУПЕТЦИД, АДДУКТ, ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ.

До ветеринарних препаратів ставлять високі вимоги щодо доклінічних досліджень фармакологічного засобу та його лікарської форми, встановлення безпечності й специфічної активності за допомогою фізико-хімічних, біологічних, мікробіологічних, фармакологічних, токсикологічних, клінічних та інших наукових методів [1].

Досліди проведені відповідно до вимог Державної Фармакопеї України та статті 6 Закону України “Про лікарські засоби”.

Пошук та розробка протимікробних засобів широкого спектру дії є актуальним і перспективним завданням. Існує потреба у розширенні арсеналу вітчизняних високоефективних і безпечних ліків для ветеринарної медицини.

Метою роботи було вивчення протимікробної активності флупетциду та визначення перспективності розробки нового протимікробного препарату для ветеринарної медицини.

Матеріали і методи. У роботі використано нову ефективну субстанцію флупетцид (син. флуоренізид-натрію; хем. назва: натрійна сіль N-(9-флуоренілден)-N'-ізонікотиногідрозиду), створену у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького. Флупетцид досліджений як новий фармакологічний засіб протимікробної дії [3, 6–8].

З метою створення розчинних фармацевтичних форм флупетциду нами досліджена його розчинність у димексиді (ДМСО), 96% спирті етиловому, ПЕГ-400 та їхніх сумішах — системі розчинників.

Нами виготовлені різні рецептурні прописи і вивчена протимікробна активність отриманих аддуктів флупетциду.

Результати й обговорення. Нові прописи флупетциду розчиняли у димексиді та системах розчинників [димексид–ПЕГ-400] у співвідношеннях 1:1, 1:4, 1:9. Отримано чотири прописи (VIII–XI).

Рецептурні прописи з флупетцидом наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Рецептурні прописи з флупетцидом

VIII. Rp.: флупетциду – 1,0 Димексиду – 100,0	IX. Rp.: флупетциду – 1,0 Димексиду – 10,0 ПЕГ-400 – 10,0
X. Rp.: флупетциду – 1,0 Димексиду – 10,0 ПЕГ-400 – 40,0	XI. Rp.: флупетциду – 1,0 Димексиду – 10,0 ПЕГ-400 – 90,0

Досліджуваний флупетцид взаємодіє з димексидом і системами розчинників [ДМСО–спирт етиловий 96%], [ДМСО–ПЕГ-400] з утворенням нових фармакологічно активних аддуктів.

Встановлено, що розчинні аддукти з вмістом флупетциду виявляють синергічну фармакологічну дію завдяки взаємодії з димексидом та системами розчинників.

Вивчена протибактерійна активність нових аддуктів флупетциду (1,0 г) у різних системах розчинників та різним співвідношенням компонентів.

Доведено, що аддукт XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90] ефективно діє на штами мікроорганізмів *S. aureus 209-p*, *S. epidermidis* і *S. pyogenes*, МПК і МБК дорівнюють 62,5 і 125 мкг (табл. 2).

Таблиця 2

Протибактерійна активність аддукту XI

Мікроорганізми	Концентрація	Ефективність флупетциду
<i>S.aureus 209-p</i>	МПК	62,5
	МБК	125
<i>S.epidermidis</i>	МПК	62,5
	МБК	125
<i>S.pyogenes</i>	МПК	62,5
	МБК	125
<i>B.subtillis 6633</i>	МПК	250
	МБК	>500
<i>E. coli 25922 F-50</i>	МПК	>500
	МБК	500
<i>Kl. pneumoniae</i>	МПК	125
	МБК	500
<i>Ps.aeruginosae</i>	МПК	250
	МБК	500
<i>C. albicans</i>	МПК	250
	МБК	500

На штами *B. subtilis 6633*, *Kl. pneumoniae*, *P. aeruginosae* і *C. albicans* дія аддукту XI дещо менш виражена, МПК і МБК дорівнюють відповідно 250 і >500 мкг; 125 і 500 мкг; 250 і 500 мкг; 250 і 500 мкг.

Аддукт XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90] малоефективний щодо штаму *E. coli 25922 F-50*, МПК і МБК відповідно перевищує 500 мкг і дорівнює 500 мкг.

Бактеріостатична активність сполук *in vitro*, як відомо, ще не свідчить про їх хеміотерапевтичну цінність. Однак за дослідженнями *in vitro* можна судити про перспективність їх подальших доклінічних досліджень.

Однією з причин, яка часто призводить до інактивації хеміотерапевтичних препаратів в організмі, є зв'язування їх тканинами або сироваткою крові.

Серійні розведення сполук на середовищі Хоттінгера проводили з таким розрахунком, щоб після додавання 20% сироватки щодо об'єму середовища концентрація була такою ж, як і в попередніх серіях досліджень. Результати протибактерійної активності аддукту за наявності 20% людської та кінської сироваток на культурі *S. aureus 209-p* подані в таблиці 3.

Таблиця 3

Протибактерійна дія аддукту за наявності 20% людської і кінської сироваток на культурі *S. aureus 209-p*

Шифр	Досліджена сполука	Бактеріостатична концентрація, мкг/мл		
		МПБ (контроль)	МПБ+20% кінської сироватки	МПБ+ 20% людської сироватки
XI	Аддукт [флупетцид– ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90]	62,5	125,0	125,0

У результаті досліджень встановлено, що за наявності 20% сироватки крові людини чи коня, антибактерійна дія досліджуваного аддукту XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90] щодо *S.aureus-209-p* зменшилася у 2 рази.

При виявленні протибактерійної дії доцільно вивчити швидкість появи стійкості до них мікроорганізмів. З цією метою проведено 20 пасажів штаму *S. aureus 209-p* на густих і рідких поживних середовищах, що мали 62,5 мкг/мл досліджуваного аддукту XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90].

У результаті множинних повторів пересівів встановлено, що бактеріостатична концентрація досліджуваного аддукту XI до музейного штаму *S. aureus 209-p* має такі ж показники – 62,5 мкг/мл, бактерицидна – 125,0 мкг/мл.

Отже, стійкість стафілокока до аддукту XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90] розвивається дуже повільно, тому що у випадку тривалого пасажування їх на середовищах, що містять їх суббактеріостатичну концентрацію, не вдалося отримати стійких до нього варіантів.

Клітини *S.aureus 209-P* вирощували на м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) при 37 °С. Обробку проводили із розрахунку кінцевих концентрацій 62,5-80 мкг/мл.

Після дії на клітини бактерій *S. aureus 209-P* аддукту XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90] в концентрації 62,5 мкг/мл через 5 год спостерігається потовщення клітинної стінки, і неправильне одностороннє септування клітин. У разі збільшення концентрації аддукту XI до 80 мкг/мл спочатку було відзначено формування потовщення септи з наступним синтезом на ній додаткового пухирчастого шару.

Виявлено, що на ультраструктурному рівні забезпечуються репаративні процеси, які виявляються у формуванні структур цитоплазматичної мембрани і в самому нуклеоїді.

Після тривалішої експозиції клітин *S. aureus 209-P* з аддуктом XI попередньо виявили відшарування клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани, а потім – лізис бактерійних клітин, унаслідок чого утворюються деревати клітин. Лізовані клітини містили цитоплазматичні мембранні структури. Деструктивні процеси, що відбувалися у клітинах *S.aureus 209-P* під впливом аддукту XI [флупетцид–ДМСО–ПЕГ-400; 1:10:90] свідчать про значне інгібування синтезу пептидоглікану, а також про активацію ферментів автолізу, що зумовлює пригнічення білок-утворювального синтезу і знижує швидкість росту популяції [2, 4, 5].

ВИСНОВКИ

На основі мікробіологічних дослідів зроблено висновок, що флупетцид виявляє протимікробну дію і доцільно продовжити його подальше доклінічне дослідження.

Перспективи подальших досліджень Результати доклінічного вивчення є основою, що визначає доцільність застосування у ветеринарній медицині фармакологічного засобу та його лікарської форми й можливість передачі їх до промислового випуску.

RESEARCH OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY FLUPETCYDU

M. M. Kovalenko

Lviv National Medical University named after Danylo Halatsky
69, Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

S U M M A R Y

The article presents the results of experimental research of antimicrobial activity flupetcyd, which is of interest for veterinary medicine. It is shown that flupetcyd shows antimicrobial effect and must continue its further clinical trials.

Keywords: FLUPETCYD, ADDUCT, PHARMACOLOGICAL PROPERTIES, ANTIMICROBIAL ACTIVITY.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛУПЕТЦИДУ

М. Н. Коваленко

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого
ул. Пекарская, 69, г. Львов, 79010, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены данные экспериментальных исследований противомикробной активности флупетцида, представляющий интерес для ветеринарной медицины. Показано, что флупетцид оказывает противомикробное действие и целесообразно продолжить его дальнейшее доклиническое исследования.

Ключевые слова: ФЛУПЕТЦИД, АДДУКТ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега [і ін.]; під ред. І.Я.Коцюмбаса. — Львів: Тріада плюс, 2006. — 360 с.
2. *Островська Л. Л.* Фармако-токсикологічна оцінка нового протимікробного препарату на основі флуоренізиду: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.04 “Ветеринарна фармакологія та токсикологія”/ Л. Л. Островська. — Львів, 2013. — 20 с.
3. Пат. 23806 А, Україна, МКВ С 07 С 109/04, А 61 К 31/15. Натрійна сіль флуореніліденгідразида, яка виявляє протимікробну дію / Петрух Л. І., Ткач О. А., Виноград Н. О., Петрух А. В., Безкопильний І. Н., Андрейко О. Ю., Коваленко М. М., Михалик О. І. // заявл. 14.02.97; опубл. 16. 06. 1998. — Бюл. № 4. — 1998.
4. *Павлій Р. Б.* Антибактеріальна та противірусна дія препаратів, сконструйованих на основі похідних флуорену. — Автореф. дис...канд.мед.наук, 03.00.07 — мікробіологія. — Харків, 2010. — 23 с.
5. *Павлій С. Й.* Антимікробна дія похідних класу флуорену / С. Й. Павлій, Р. Б. Павлій, О. І. Михалик // “Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни”: Тези доп. наук.-практ. конф. — Львів, 2006. — С. 45–46.
6. *Петрух Л. І.* Актуальність створення і впровадження у промислове виробництво нових лікарських засобів: зб. описів винаходів / Л. І. Петрух — Львів, ЛьвЦНТЕІ, 2003. — 198 с.
7. *Петрух Л. І.* Флуорени як туберкулостатики. Флуоренізид: мікробіологічні, фармакологічні та клінічні аспекти: Монографія / Л. І. Петрух. — Львів, 2008. — 464 с.
8. *Петрух Л. І.* Флуорени вірулоцидної дії. Противірусна активність флуоренізиду і перспектива застосування у боротьбі з біотероризмом / Л. І. Петрух. — Львів, 2014. — 210 с.

Рецензент — Л. І. Петрух, д-р. фарм. наук, професор, ЛНМУ імені Данила Галицького.