

УДК 615.28:615.453.42

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ОРНІДАЗОЛУ З ФЛАМІНОМ

Бобрицька Л. О., Рубан О. А., Осолодченко Т. П. *,
Щербак О. М. *, Дмитрівський Д. І.

*ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.
Мечникова НАМН України»
Національний фармацевтичний університет,
м. Харків

За останні роки спостерігається зростання поєднаних інфекційно-запальних захворювань в організмі людини, де провідне місце займають трихомоніаз та бактеріальний вагіноз.

Як моноінфекції ці захворювання зустрічаються порівняно рідко і являють собою здебільшого змішаний протозойно-бактеріальний процес. Відомо, що такі асоціації з іншими інфекціями можуть бути обумовлені вірусами (цитомегаловірус, віруси герпесу, гепатиту, СНІДу, папіломавірус), бактеріями (гонорея, шанкроїд, сифіліс, донованоз, мікоплазменна інфекція та ін.), хламідіями, найпростішими (трихомоніаз), грибами, паразитами, лікування яких являє серйозну проблему [1, 2].

На сьогодні для лікування асоційованих бактеріальних інфекцій застосовуються комбіновані препарати, які випускаються в різних лікарських формах. До їх складу зазвичай входять два антимікробних засоби, іноді – три або чотири. Вибір комбінації передбачає: 1) потенціювання активності в порівнянні з дією одного препарату в монотерапії; 2) розширення спектру дії, включаючи активність і щодо відносно резистентних штамів до того або іншого компоненту; 3) можливість зниження частоти розвитку лікарської стійкості до певної групи антимікробних препаратів; 4) поліпшення переносимості ліків, зменшення частоти і тяжкості побічних реакцій, в першу чергу за рахунок зниження лікувальних доз препаратів [3–5].

Для лікування змішаних трихомонадно-бактеріальних інфекцій застосовуються препарати:

- у формі вагінальних таблеток «Мератин Комбі» (Mili Healthcare, Великобританія), до складу яких входять орнідазол, ністатин, неоміцину сульфат, преднізолон;

- у формі таблеток «Тифлокс» (Norton International Pharmaceutical Inc., Канада), який містить орнідазол і офлоксацин [6, 7].

Відомо, що сучасні фітопрепарати, число яких в останні роки має виражену тенденцію до зростання, володіють рядом переваг. Вони широко використовуються при комплексному лікуванні різних захворювань, відрізняючись високою ефективністю, низькою токсичністю, легкою засвоюваністю і можливістю тривалого застосування без ризику виникнення побічних явищ.

Актуальним є пошук шляхів розширення практичного застосування рослинних субстанцій,

зокрема, що містять флавоноїди. У теперішній час загальноновизнано, що флавоноїди відрізняються широким спектром фармакологічної дії. З великої кількості наукових робіт, які присвячені дослідженню флавоноїдів, відомо, що ці речовини з успіхом застосовуються при лікуванні захворювань серцево-судинної, травної, сечовивідної та інших систем органів. Вони проявляють спазмолітичну, проти-запальну, жовчогінну, діуретичну, антимікробну активність [8, 9].

На сьогодні широко використовують рослини роду цмину, суцвіття якого містять глікозиди флавоноїдів (саліпурпозид, ізосаліпурпозид, кемпферол та ін), флавоноїди (нарінгенін, апігенін), ефірні масла, органічні кислоти, полісахариди та інші біологічно-активні речовини різних груп. У практичній фармації застосовують такі препарати цмину: квітки цмину піщого, що входять до складу жовчогінних зборів, сухий екстракт цмину піщого (пригнічує ріст стафілококів і стрептококів, знімає болі в області жовчного міхура, а крім того чинить спазмолітичну дію), новогаленовий препарат «Фламін», який містить суму флавоноїдів не менше 70,0 % (як жовчогінний засіб), мазь «Аренарину» 1 % (природний антибіотик аренарин), що володіє антимікробною активністю щодо грампозитивних бактерій при хімічних, термічних опіках очей [10, 11].

У зв'язку з вищевикладеним, доцільним є використання орнідазолу у комплекси з фламіном, що дозволить значно розширити спектр фармакологічної активності розробленого препарату. Для встановлення раціонального складу фармацевтичної композиції було виготовлено зразки капсул наступних складів:

1. склад капсул № 1: орнідазолу 0,3 г, фламіну 0,05 г

2. склад капсул № 2: орнідазолу 0,5 г, фламіну 0,05 г

В якості допоміжних речовин до складу капсул входили крохмаль кукурудзяний, магнія стеарат.

Мета роботи полягала у вивченні антибактеріальної активності фармацевтичної композиції, до складу якої входить орнідазол та фламін.

Матеріали та методи.

Вивчення антибактеріальних властивостей капсул двох складів проводили методом дифузії в агар в лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ «ІМІ ім. І. І. Мечникова НАМН України».

Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референтні тест-штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Мікробне навантаження складало 10⁷ мікробних клітин на 1 мл середовища та встановлювалось за стандартом McFarland. В роботі використовували 18-24 годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюл-

лер-Хінтона (Дагестанський НДІ поживних середовищ).

За методикою «колодязів» проводили визначення антибактеріальної активності на двох шарах щільного живильного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар представляє собою підкладку висотою 10 мм, на яку горизонтально встановлювали 3-6 тонкостінних циліндра з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з живильного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 40 °С, в яке вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар добре перемішувався до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягали з лунки, що утворилась, вміщували випробувану речовину з урахуванням її об'єму.

Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14 до 16 мм. Чашки підсушували 30-40 хвил. при кімнатній температурі та ставили в термостат на 18-24 год. Для анаеробних мікроорганізмів *Clostridium perfringens* 28, *Clostridium novyi* 277, *Peptococcus niger*, *Bacteroides fragilis* 13/83 використовували анаеростат, в який поміщали посіви, відкачували повітря для клостридій і ставили в термостат на 48 годин. Для аспорогенних анаеробних мікроорганізмів (пептококи і бактероїди) з анаеростата відкачували повітря, а потім заповнювали газовою сумішшю (N₂ 80,0 %, C₂ 10,0 %, O₂ 10,0 %). Посіви культивували 48-72 години в термостаті, а потім проводили облік результатів. Стандарт мікробної суспензії становив 10⁹ мікробних клітин / мл.

При оцінці антибактеріальних властивостей враховували наступні критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказують на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку зразку;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на малу чутливість культури до ви-

пробовуваної концентрації антибактеріальної речовини;

- зони затримки росту діаметром 15-25 мм характеризуються як показник чутливості мікроорганізму до випробуваного зразку;

- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних зразків.

Кількісну оцінку антимікробної дії оцінювали методом серійних розведень. Сутність методу полягає у визначенні мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК), що характеризує бактеріостатичні властивості об'єктів дослідження. В першу пробірку вносили концентрацію досліджуваної речовини, яка складала 1000,0 мкг/мл, потім розводили поживним бульйоном в 2 рази. З першої пробірки перекатом відбирали 1 мл розведеної досліджуваної речовини. Концентрація речовин складала 1) 500,0 мкг/мл; 2) 250,0 мкг/мл; 3) 125,0 мкг/мл; 4) 62,5 мкг/мл; 5) 31,2 мкг/мл; 6) 15,6 мкг/мл; 7) 7,8 мкг/мл; 8) 3,9 мкг/мл; 9) 2,0 мкг/мл; 10) 1,0 мкг/мл. В кожен пробірку вносили 0,1 мл 10⁹ мікробних клітин тест-штамів (*Clostridium perfringens* 28, *Clostridium novyi* 277, *Peptococcus niger*, *Bacteroides fragilis* 13/83, *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 653/885). Культивували 24-48 год., в пробірках, де був відсутній ріст (немає помутніння), визначали МПК. З останніх 3-х пробірок, в яких не було помутніння, робили висів на поживний агар і визначали МБК (мінімальну бактерицидну концентрацію).

Результати та обговорення.

Результати антимікробної активності фармацевтичних композицій у формі капсул (табл. 1) свідчать, що досліджувані препарати характеризуються вибірковою спектром антибактеріальних властивостей у відношенні штамів анаеробних бактерій. Найбільшу чутливість до препаратів виявив тест-штам *Peptococcus niger* (діаметр зони затримки росту мікроорганізмів складає 23-24 мм).

Таблиця 1 Антимікробна активність капсул щодо анаеробних бактерій

Тест культури	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм	
	склад капсул № 1	склад капсул № 2
<i>Clostridium perfringens</i> 28	21,2±1,3	22,3±1,4
<i>Clostridium novyi</i> 277	22,3±1,4	22,1±1,3
<i>Peptococcus niger</i>	23,5±1,8	24,2±1,5
<i>Bacteroides fragilis</i> 13/83	21,6±1,5	22,5±1,2

Примітка. n=3

Слід відзначити, що діаметр зони затримки росту мікроорганізмів у капсул складу № 1 з дозою орнідазолу 0,3 г (тобто в 1,7 раз менше у порівнянні з вмістом капсул складу № 2) практично має однакові значення з капсулами складу № 2. Це свідчить про те, що біофлаваноїди фламіну проявляють достатньо виражену антимікробну

активність, що дозволить розширити спектр його дії щодо штамів аеробної природи.

Значення МПК (табл. 2) характеризує бактеріостатичні властивості наведених фармацевтичних композицій по відношенню до анаеробних бактерій, що узгоджується з даними літератури про антимікробну активність орнідазолу [4, 5]. Бактеріостатичні властивості капсул,

орнідазолу та фламіну були підтверджені *Clostridium perfringens* 28, *Clostridium novyi* 277, значеннями МПК щодо відповідних штамів: *Peptococcus niger*, *Bacteroides fragilis* 13/83.

Таблиця 2 Визначення МПК щодо анаеробних бактерій

Тест культури	МПК, мкг/мл			
	склад капсул № 1	склад капсул № 2	орнідазол	фламін
<i>Clostridium perfringens</i> 28	65,2±15,1	60,2±15,2	50,2±2,3	55,4±3,1
<i>Clostridium novyi</i> 277	3,5±1,4	2,5±1,3	3,2±1,2	3,1±1,1
<i>Peptococcus niger</i>	8,3±4,3	8,2±4,1	7,3±1,3	8,3±2,3
<i>Bacteroides fragilis</i> 13/83	17,5±7,1	17,4±6,3	15,5±6,1	15,5±7,1

Примітка. n=3

Результати значень антимікробної активності відносно аеробних бактерій та грибів наведені в табл. 3.

Таблиця 3 Антимікробна активність капсул щодо аеробних бактерій та грибів

Тест культури	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм	
	склад капсул № 1	склад капсул № 2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 26923	23,5±2,1	22,8±1,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	19,4±1,2	18,5±1,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	14,3±1,3	15,7±1,3
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	23,4±1,5	25,3±1,2
<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885	15,2±1,3	14,5±1,2

Примітка. n=3

Як видно з табл. 3, комбіновані препарати орнідазолу з фламіном мають розширений спектр антимікробної дії відносно аеробних бактерій та грибів. Зона затримки росту діаметром до 25 мм свідчить про високий показник чутливості мікроорганізмів до цих препаратів.

Достатньо високий показник чутливості мають препарати до *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 та *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (зона затримки росту складає 22-23 мм), а також до *Escherichia coli* ATCC 25922 (зона затримки росту складає 18-19 мм).

Слід зазначити, що препарати поряд з антибактеріальною виявляють помірно виражену

антифунгальну дію. Зона затримки росту навколо лунки до *Candida albicans* ATCC 653/885 має діаметр 14-15 мм.

Незначну антимікробну властивість мають препарати щодо культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (зона затримки росту 14-15 мм).

Неактивні препарати щодо *Proteus vulgaris* ATCC 4636, відсутня зона затримки росту мікроорганізмів навколо лунки.

Значення МПК (табл. 4) підтверджує бактеріостатичні властивості досліджуваних препаратів по відношенню до аеробних бактерій та грибів.

Таблиця 4 Визначення МПК відносно аеробних бактерій та грибів

Тест культури	МПК, мкг/мл			
	склад капсул № 1	склад капсул № 2	орнідазол	фламін
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 26923	175±12,4	150±18,2	200±10,4	250±11,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	350±18,4	300±20,5	400±16,4	450±19,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	530±15,2	500±11,3	600±10,2	800±12,2
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	120±11,3	100±15,2	150±14,3	150±12,3
<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885	320±21,7	300±25,4	400±11,4	350±12,4

Примітка. n=3

В цілому, результати досліджень по вивченню антибактеріальної активності відносно аеробних бактерій та грибів підтверджують антимікробні властивості біофлаваноїдів фламіну.

Розроблена фармацевтична композиція у формі капсул, до складу якої входить орнідазол та фламін, володіє антимікробною активністю відносно анаеробних (*Clostridium perfringens* 28, *Clostridium novyi* 277, *Peptococcus niger*, *Bacteroides fragilis* 13/83) та аеробних (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) бактерій та грибів (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Висновки

1. Для лікування змішаних бактеріальних інфекцій запропоновано фармацевтичну композицію у формі капсул, що володіє антимікробною активністю відносно анаеробних (*Clostridium perfringens* 28, *Clostridium novyi* 277, *Peptococcus niger*, *Bacteroides fragilis* 13/83) та аеробних (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) бактерій та грибів (*Candida albicans* ATCC 653/885).

2. Рослинна субстанція фламіну в поєднанні з орнідазолом дозволила розширити спектр дії останнього за рахунок власних антибактеріальних властивостей. Терапевтична доза орнідазолу 0,3 г у складі капсул поліпшить переносимість, можливо, зменшить навантаження і тяжкість побічних проявів.

References:

1. Padeyskaya, E. N. Preparations of 5-nitroimidazoles for the treatment of anaerobic and protozoal infections [Electronic resource] / E. N. Padeyskaya // Infections and antimicrobial therapy. – 2000. – № 4. – V. 2. – P. 1–18. – Mode of access : old.consilium-medicum.com/media/infection/00_04/110.shtml.
2. Especially impact antiprotozoa drug ornidazole on the body of experimental animals / M. J. Kudrya, I. A. Palagina, N. V. Ustenko et al. // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2008. – №10. – P. 247–251.
3. Method development and validation for the simultaneous estimation of ofloxacin and ornidazole in tablet dosage form by RP-HPLC [Electronic resource] / B. Dhandapani, N. Thirumoorthy, Shaik Harun Rasheed et al. // International Journal of Pharmacy Sciences and Research (IJPSR). – 2010. – Vol.1(1). – P. 78–83. – Mode of access : http://www.ijpsr.info/docs/IJPSR-10-01-01-11.pdf.
4. Formulation and evaluation of orodispersible tablet of ornidazole / Kulkarni Maushumi S*, Zeeshan Ahmed, S. Bhise Kiran et al. // International Journal of Pharmaceutical Studies and Research. – 2010. – Vol. I / Issue II. – P. 39–47.
5. Optimization, Characterisation and Pharmacokinetic Studies of Mucoadhesive Oral Multiple Unit Systems of Ornidazole [Electronic resource] / Govind S. ASANE,

Yamsani Madhusudan RAO, Jaykrishna H. BHATT et al. // Sci Pharm. – 2011. – № 79. – P. 181–196. – Mode of access : http://www.scipharm.at/download.asp?id=918.

6. Potapov, V. A. Tyflox : The new approach of treatment of mixed infections of small pelvis organs for women [Electronic resource] / V. A. Potapov. – Mode of access : m-l.com.ua/?aid=505.

7. Rygko, P. P. The modern principles of complex therapy of trichomonad and Chlamydia infection. / P. P. Rygko // Ginochiy likar. – 2008. – № 3. – P. 26–31.

8. Popova, N. V. Antibiotic properties of lyteolin / N. V. Popova, S. I. Degtyareva, V. I. Litvineko // Ukrainian biopharmaceutical magazine. – 2011. – № 6 (17). – P. 4–10.

9. Popova, N. V. The medicinal plants of world flora. / N. V. Popova, V. I. Litvineko – Kh., 2008. – 510 p.

10. Litvineko, V. I. Cmins: botanical deskription, chemical composition, application / N. V. Popova, V. I. Litvinenko, O. O. Volkovitch // Pharmacom. – 2001. – №1. – P. 9–15.

11. Mashkovskiy, M. D. Medicinal means: V. 2. / M. D. Mashkovskiy. – M. : «Novaja volna» Publishing hous, 2000. – V. 1. – 540 p.

УДК 615.28:615.453.42

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ОРНІДАЗОЛУ З ФЛАМІНОМ

Бобрицька Л.О., Рубан О.А., Осолодченко Т.П.,
Щербак О.М., Дмитрієвський Д.І.

Для лікування асоційованих протозойно-бактеріальних інфекцій запропоновано фармацевтичну композицію у формі капсул, до складу якої входить орнідазол та рослинна субстанція фламіну. Встановлено антимікробну активність відносно анаеробних (*Clostridium perfringens* 28, *Clostridium novyi* 277, *Peptococcus niger*, *Bacteroides fragilis* 13/83) та аеробних (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) бактерій та грибів (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Ключові слова : антибактеріальні препарати, капсули, орнідазол, фламін.

УДК 615.28:615.453.42

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ ОРНИДАЗОЛА С ФЛАМИНОМ

Бобрицкая Л.А., Рубан Е.А., Осолодченко Т.П.,
Щербак О.Н., Дмитриевский Д.И.

Для лечения ассоциированных протозойно-бактериальных инфекций предложено фармацевтическую композицию в форме капсул, в состав которой входит орнидазол и растительная субстанция фламина. Установлено антимикробную активность относительно анаеробных (*Clostridium*

perfringens 28, Clostridium noyvi 277, Peptococcus niger, Bacteroides fragilis 13/83) и аеробных (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) бактерий и грибов (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Ключевые слова : антибактериальные препараты, капсулы, орнидазол, фламин.

UDC 615.28:615.453.42

**ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF
PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS WITH
ORNIDAZOLE AND FLAMINI**

Bobritskaya L.A., Ruban H.A., Osolodchenko T.P., Shcherbak O.N. *, Dmitrievskiy D.I.

For the treatment of protozoal-associated bacterial infections of a pharmaceutical composition in capsule form, which includes ornidazole and herbal substances flamini. Established antimicrobial activity against anaerobic (*Clostridium perfringens 28, Clostridium noyvi 277, Peptococcus niger, Bacteroides fragilis 13/83*) and aerobic (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) bacteria and fungi (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Key words : antibacterials preparations, capsule, ornidazole, flamini.