

Аннотація. В обзорній статті представлені дані літератури і результати власних досліджень авторів, присвячених науковим основам і практичному використанню хемілюмінесцентного аналізу в ветеринарії і біотехнології.

Ключеві слова: хемілюмінесцентний аналіз, вільні радикали, активні форми кисню, аденозинтрифосфат, ветеринарія, біотехнологія.

CHEMILUMINESCENT ANALYSIS IN PRACTICAL VETERINARY MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY
(Literature review and results of our own experiments)

Gordiyenko A.D., doctor of pharmacological science, reader, Blazhievsky M.E.,* doctor of chemical science, professor

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv
National Pharmaceutical University, Kharkiv*

Summary. The data published and the results of our own investigations devoted to the scientific principles and practical use of the chemiluminescent analysis in veterinary medicine and biotechnology have been presented in the review article.

Key words: chemiluminescent analysis, free radicals, active forms of oxygen, adenosin triphosphate, veterinary medicine, biotechnology.

УДК 54.02:661.122:579.873.13

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ТАБЛЕТОВАНОГО ПРОБІОТИКА З КИШКОВОРІЗЧИННИМ ПОКРИТТЯМ ПРИ ЛІКУВАННІ ДИСБІОЗУ

Гордієнко П.А., ст.лаб.

Чуєшов В.І., д. фарм.н., професор

Гордієнко А.Д.,* д. фарм.н., доцент

Кудогоцева О.В.,**к.біол.н., с.н.с.

Національний фармацевтичний університет, м.Харків

Харківська державна зооветеринарна академія, м.Харків*

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків**

Анотація. Показано, що використання експериментального зразку нового бактерійного препарату – таблеток "Біфілак" з кишковорозчинним покриттям нормалізує рівень біфідобактерій і лактобактерій, та пригнічує ріст умовно-патогенної мікрофлори у кишечнику на моделі експериментального дисбіозу у кролів, викликаного антибіотиком ампіоксом.

Ключові слова: дисбіоз, ліофілізований біфідумбактерин і лактобактерин, таблетки з кишковорозчинним покриттям, антибіотик ампіокс.

Актуальність проблеми. Основними засобами профілактики та лікування дисбіозу є препарати пробіотики [1,2]. Пробиотики являють собою моно- або складні культури живої або інактивованої біомаси фізіологічної мікрофлори кишечника, дія якої направлена на відновлення або формування природних біотопів мікроорганізму.

Зареєстровані на ринку України фармакопейні пробіотичні препарати, збагачені пробіотичними культурами, за винятком капсул Біфіформ (Fergosan, Данія) з кишковорозчинним покриттям, є не стійкими в кислому середовищі [3]. Внаслідок дії кислого середовища шлунку велика кількість живих мікробних культур, що містяться у препаратах, інактивується, не досягнувши кишечника, де вони, в основному, і надають терапевтичну дію [3, 4].

Труднощі отримання лікарських форм з пробіотиками й їх зберігання, пов'язані з їх високою гігроскопічністю, що є однією з перешкод створення стабільних препаратів [5]. Одним із способів підвищення стабільності є нанесення на поверхню лікарських форм покриттів, зокрема кишковорозчинних, що забезпечують захист від дії вологи, з можливістю їх тривалого зберігання, захисту від дії кислого середовища шлунку та здатністю розчинятися у кишечнику [6]. Останнім часом актуальним є нанесення кишковорозчинних покриттів з водних дисперсій полімерів [6]. Одним з таких продуктів для отримання плівкового кишковорозчинного покриття є готова композиція SeleCoat™, плівкоутворювачем у складі якої є сополімер метакрилової кислоти тип с-Kollocoat® MAE 100P [6].

Таблиця
Вплив таблеток "Біфілак" з кишковорозчинним покриттям на склад мікрофлори кишечника кролів при експериментальному дисбіозі, n =6

Група	Термін дослідження, доба	Кількісний склад мікроорганізмів у 1 г випорожнень, lg x ±Sx						
		B. bifidum	L. bacterium	E. coli	S. aureus	P. vulgaris	Умовно-патогенні ентеро-бактерії	C. albicans
I інтактні тварини (контроль)	1	5,13±0,17	8,10±0,12	7,22±0,21	4,11±0,26	4,27±0,18	2,47±0,27	1,33±0,35
	6	5,15±0,14	8,11±0,13	7,24±0,16	4,13±0,17	4,25±0,20	2,46±0,24	1,32±0,30
	19	5,17±0,12	8,13±0,11	7,28±0,18	4,16±0,22	4,26±0,19	2,45±0,22	1,32±0,36
II патологія, дисбіоз	1	5,12±0,10	8,10±0,12	7,22±0,19	4,36±0,16	4,26±0,17	2,86±0,18	1,86±0,11
	6	3,54±0,15*	6,05±0,14*	7,96±0,17*	5,63±0,21*	5,26±0,27*	6,13±0,26*	4,12±0,16*
	19	4,15 ±0,10*	6,20 ±0,12*	7,88±0,16*	5,28±0,23*	5,19±0,19*	6,11 ±0,28*	3,85±0,15*
III дисбіоз+ таблетки "Біфілак" з кишковорозчинним покриттям	1	5,04±0,26	8,06±0,10	7,22±0,18	4,15±0,22	4,25±0,22	2,43±0,31	1,42±0,24
	6	4,38±0,10*	6,12±0,15*	7,90±0,19*	5,57±0,17*	5,26±0,27*	5,45±0,15*	4,07±0,14*
	19	5,05±0,10**	8,00±0,14**	7,05±0,17**	4,05±0,20**	4,06±0,16**	2,13±0,14**	1,24±0,11**

Примітки. * - відхилення достовірне відносно до контролю (інтактні тварини), P<0,05.

** - відхилення достовірне відносно до патології (дисбіозу), P<0,05.

n – кількість тварин в групі

В Національному фармацевтичному університеті на кафедрі промислової фармації ліків раніше нами була розроблена таблетована кишковорозчинна форма пробіотика під умовною назвою "Біфілак" на основі біфідумбактерина сухого і лактобактеріна сухого, висока біологічна активність якого зберігається протягом 1,5 років при зберіганні їх у контурному чарунковому пакованні при температурі не вище +8°C [7,8]. Отримані таблетки з кишковорозчинним покриттям на основі композиції SeleCoat™ задовільняють вимогам ДФУ на розпадання [9]. На агарі після 8-годинної інкубації при температурі +37°C не спостерігали зростання сторонньої мікрофлори, а в мазках із препарату були відсутні мікроорганізми, які відрізняються по морфології від біфідобактерій і лактобактерій.

Розроблено проекти технологічного регламенту та АНД на таблетки "Біфілак", покритих кишковорозчинною оболонкою. Технологія одержання таблеток "Біфілак" апробована в умовах виробництва філії ТОВ «Дослідний завод "ДНЦЛЗ"» (акт апробації від 19.10.09 р.).

Завдання дослідження. Вивчити специфічну фармакологічну активність таблеток "Біфілак" з кишковорозчинним покриттям на моделі експериментального дисбіозу у кролів, викликаного антибіотиком ампіоксом.

Матеріал і методи дослідження. Специфічну фармакологічну активність таблеток "Біфілак" з кишковорозчинним покриттям визначали в умовах експериментального дисбіозу, викликаного шляхом внутрішньошлункового введення антибіотика ампіокса в дозі 10 мг/кг кролям (масою 3,0-3,5 кг) протягом 5 діб [10].

Таблетки кролям вводили у кількості $2,5 \times 10^7$ біфідо- і $2,5 \times 10^7$ лактобактерій протягом 14 діб після останнього введення ампіоксу. Про склад мікрофлори судили по бактерійному складу фекалій тварин. Фекалії зважували, розтирали в фарфоровій ступці в 10-кратному об'ємі стерильного фізіологічного розчину, висівали на елективні середовища для бактерій *B. bacterium*, *L. bacterium*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *C. albicans*, умовно-патогенних ентеробактерій. Обробку одержаних результатів проводили з використанням статистичних методів [11].

Результати дослідження. Дані по вивченню впливу пробіотичного препарату на мікробіоценоз кишечника при експериментальному дисбіозі у кролів наведені в таблиці.

Встановлено, що у тварин з експериментальним дисбіозом на 6-у добу внутрішньошлункового введення ампіоксу вірогідно знизився вміст біфідо- і лактобактерій та вірогідно зросла кількість умовно-патогенної мікрофлори в порівнянні з контролем. Після 14 днів лікування таблетованим пробіотиком (на 19 добу) відмічається відновлення до показників норми біфідо- і лактобактерій і вірогідне зниження кількості умовно-патогенних бактерій порівняно з дисбіозом до показників контролю (інтактних тварин).

Таким чином, лікування таблетками "Біфілак" протягом 14 діб забезпечило ефективну нормалізацію мікрофлори кишечника кролів. Це дає основу припустити, що висока ефективність препарату обумовлена тим, що кишковорозчинне покриття таблеток захищає біфідо- і лактобактерії від дії кислого середовища шлунку, які надходять у кишечник у незміненому вигляді, накопичуються там та проявляють терапевтичну дію.

Отримані експериментальні дані дозволяють зробити обґрунтований висновок про високу ефективність розробленого нового пробіотика, який може бути перспективним для корекції мікрофлори кишечника при дисбіозах.

Висновок

Таблетований пробіотик "Біфілак" з кишковорозчинним покриттям вірогідно збільшує кількість біфідо- і лактобактерій та пригнічує ріст умовно-патогенних мікроорганізмів в кишечнику на моделі експериментального дисбіозу у кролів, викликаного ампіоксом.

Література

1. Бондаренко В.М. Обоснование и тактика назначения в медицинской практике различных форм пробиотических препаратов / В.М. Бондаренко // Фарматека. –2012. – № 13. – С.77–87.
2. Ардатская М.Д. Пре- и пробиотики в коррекции микророзкологических нарушений кишечника / М.Д. Ардатская // Фарматека. –2011. – №12. – С.62– 69.
3. Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. - М.: ГЭОТАР – МЕД, 2001. – 768 с.
4. Гордиенко П.А. Технологические аспекты создания эффективного комплексного препарата-пробиотика на основе современных биотехнологий / П.А. Гордиенко: тез. III Всеукраинской науч.-практ. конф. с междунар.участием "Биотехнология. Образование. Наука. Практика" – Харків. – 2006. – С. 121.
5. Collins M.D. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut / M.D. Collins, G.R. Gibson // Am. J. Clin. Nutr. –1999. –V. 69. – N. 5. – P. 1052–1057.
6. Разработка метода получения и тестирования полимерных пленок с целью оптимизации

- пленочного покриття таблеток / А.С. Гаврилов, Е.В.
7. Гусельникова, Л.А. Конева и др. // Хим.фарм.журнал. – 2003. – Т. 30. – № 6. – С.54–56.
 8. Гордієнко П.А. Створення таблетованих комбінованих синбіотиків для лікування дисбіозу та їх дослідження / П.А. Гордієнко, В.І. Чуєшов, Р.О. Пашнева // Запорозький медичинський журнал. – 2008. – № 6. – С. 67–69.
 9. Гордієнко П.А. Покриття таблетованих пробіотичних препаратів кишковорозчинною оболонкою та їх дослідження / П.А. Гордієнко, В.І. Чуєшов, Р.О.Пашнева // Фармацевтичний часопис. 2009. – № 1 (9). – С. 24-27.
 10. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково- експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
 11. Экспериментальная оценка эффективности нового бактериального препарата субтилакт при лечении дисбактериозов / А.Н. Забокрицкий, Л.П. Ларионов, Е.Н. Плохушко и др. // Хим.фарм. журнал. – 2006. – Т. 40, № 5. – С. 3–7.
 12. Сопин Е.Ф. Основы биохимических методов исследования / Е.Ф. Сопин, Р.П. Виноградова. – М.: Вища школа. – 1975. – 244 с.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТАБЛЕТИРОВАННОГО ПРОБИОТИКА С
КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫМ ПОКРЫТИЕМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДИСБИОЗА

Гордиенко П.А., ст. лаб., Чуєшов В.І., д. фарм.н., професор, Гордиенко А.Д.,* д. фарм.н., доцент
Кудокотсева Е.В., **к.биол.н., с.н.с.

Национальный фармацевтический университет, **г. Харьков**

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков*

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, **г. Харьков****

Анотація: Показано, что использование экспериментального образца нового бактериального препарата – таблеток "Бифилак" с кишечнорастворимым покрытием, нормализует уровень бифидобактерий и лактобактерий, и угнетает рост условно-патогенной микрофлоры в кишечнике на модели экспериментального дисбиоза у кролей, вызванного антибиотиком ампиоксом.

Ключевые слова: дисбиоз, лиофилизированный бифидумбактерин и лактобактерин, таблетки с кишечнорастворимым покрытием, антибиотик ампиокс.

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF TABLETED PROBIOTIC WITH INTESTINE -DISINTEGRATED
COATING WHEN CURING DISBIOSIS

Gordiyenko P.A., seniour lab assistant, Chueshov V.I., doctor of pharmacological science, professor,

Gordiyenko A.D. *, doctor of pharmacological science, reader,

Kudokotseva O.V., **candidate of biological science, seniour researcher

National Pharmaceutical University, Kharkiv

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv*

Institute of cryobiology and cryomedicine, NAN of Ukraine, Kharkiv**

Summary. It has been demonstrated on the model of the experimentally induced disbiosis in rabbits caused by the antibiotic "Ampiox" that the use of the experimental sample of the new bacteria preparation – tablets "Biphilak" having an intestine- disintegrated coating normalizes the level of biphidobacteria and lactobacteria and inhibits the growth of conditionally pathogenic microflora in the intestine.

Key words: disbiosis, lyophilized biphidumbacterin and lactobacterin, tablets with intestine- disintegrated coating, antibiotic "Ampiox".