

УДК 615.28:615.453.42

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ «ЛАВАФЛАМ»

Асланян М. А.*, Бобрицька Л. О.*,
Осолодченко Т. П.,

*Національний Фармацевтичний університет
МОЗ України
Державна Установа «Інститут мікробіології та
імунології ім. І. І. Мечникова Національної
академії медичних наук України»

Проблема патології гепато-біліарної системи (ГБС) з інфекційним генезом набуває актуальності з ростом порушень та ускладнень обміну ліпідів та жовчних пігментів серед людей молодого віку [1]. Провідна роль в профілактиці та лікуванні при даній патології належить антибактеріальним хіміопрепаратам. Проте, поряд з протимікробною дією, при лікуванні антибактеріальними препаратами спостерігаються численні негативні побічні ефекти. За даними останніх досліджень при патології гепато-біліарної системи (ГБС) терапевтичний ефект відмічений у препаратів рослинного походження з жовчогінною дією, а також їх різноманітних композицій [2-4].

Сучасні фітопрепарати, число яких в останні роки має виразну тенденцію до зростання, володіють рядом переваг перед синтетичними засобами та широко використовуються при комплексному лікуванні різних захворювань. Вони характеризуються високою ефективністю; низькою токсичністю; легкою засвоюваністю; можливістю тривалого застосування без ризику виникнення побічних явищ. Тому актуальним є пошук шляхів розширення практичного застосування рослинних субстанцій, зокрема, що містять флавоноїди. В даний час загально визнано, що флавоноїди відрізняються широким спектром фармакологічної дії і з успіхом застосовуються при лікуванні серцево-судинних, спазмолітичних, протизапальних, діуретичних, антимікробних та інших захворювань [2, 3, 5].

На сьогодні широко використовують рослини роду цмину, суцвіття якого містять глікозиди та флавоноїди (саліпурпозид, ізосаліпурпозид, кемпферол та ін), флавоноїди (нарінгенін, апігенін), ефірні масла, органічні кислоти, полісахариди та інші біологічно-активні речовини різних груп. В практичній фармації застосовують такі препарати цмину: квітки цмину піскового, що входять до складу жовчогінних зборів, сухий екстракт цмину піскового (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 та застосовується при хімічних, термічних опіках очей [5].

Окрім основної жовчогінної дії, препарати цієї групи повинні володіти протимікробною, протизапальною, антибактеріальною, спазмолітичною діями, а також покращувати перистальтику жовчовивідних шляхів [5-7].

Арсенал препаратів з відповідною дією недостатній, тому дослідження було проведено у напрямку пошуку ефективних поєднань рослинних речовин різних груп з метою створення ефективного лікарського засобу для лікування захворювань гепато-біліарної системи (ГБС) з інфекційним генезом.

З літературних джерел відомо, що лавандова олія володіє рядом цих фармакологічних дій. Лавандова олія - Aetholeum Lavandulae: безбарвна або блідо-жовта або жовто-зелена масляниста рідина з характерним специфічним запахом і смаком. Масло добре розчиняється в абсолютному спирті, в 4-х обсягах 70% спирту, ацетоні, діетиловому і петролейному ефірі, а також в рослинних оліях; щільність 0.875-0.888; показник рефракції 1,459-1,470; оптична активність від -12,50 до -70, кислотне число не більше 1,0 [9]. Хімічний склад: ефірна олія (до 1,5%) містить складні ефіри ліналоола і кислот: оцтової (ліналоолацета- 25-55%), масляної, валерианової і капронової, а також α - і β ліналоол (20-38%), лавандулл, гераніол, цитраль, борнеол, лімонен, камфора (0,2-0,2%), пінен, сліди цинеолу, етіламіл кетон, каріофіленоксид. У сировині виявлені кумарини, флавоноїди (лютеолін), гідроксикоричні кислоти, фітостероли, трітерпени [5, 6].

Препарати на основі олії лаванди застосовують як антисептичні та протизапальні засоби. Рекомендують препарати лаванди при втомі, нервових шлункових розладах, синдромі Roehmheld's, при метеоризмі. У Німеччині препарати лаванди рекомендовані при безсонні, втоми, втрату апетиту, нервових розладах [6].

У зв'язку з вищевикладеним, доцільним є використання лавандової олії у комплексі з фламіном, що дозволить значно розширити спектр фармакологічної активності розробленого препарату.

Метою дослідження було вивчити антибактеріальні властивості різноманітних комбінацій з фламіном та лавандовою олією у складі комбінованих лікарських засобів, які рекомендовані для застосування при лікуванні холециститів та холангітів.

Матеріали та методи

Вивчення антибактеріальних властивостей таблеток трьох складів проводили методом серійних розведень відповідно до методичних рекомендацій, де для оцінки активності препаратів використовували референтні тест-штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli*

ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Мікробне навантаження складало 10^8 мікробних клітин на 1 мл середовища та встановлювалось за стандартом McFarland. В роботі використовували 18-24 годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона, для *C. albicans* використовували Сабуро-декстрозний агар («НІМедіа Laboratorles Pvt. Ltd India»). Сутність методу полягає у визначенні мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК), що характеризує бактеріостатичні властивості об'єктів дослідження [8].

Клінічні штами мікроорганізмів були отримані з жовчі хворих, яку відбирали під час зондування жовчного міхура. Матеріал відбирали в медичному центрі «Евіва» та протягом 2,0-2,5 годин доставляли в лабораторію. В результаті досліджень у 53 хворих на холецистит і холангіт із патологічного матеріалу було виділено та ідентифіковано 61 штам мікроорганізмів [9]. Всі виділені клінічні штами мікроорганізмів від хворих були досліджені на чутливість до комбінованого препарату у формі таблеток з фламіном та лавандовою олією. Для виділення анаеробних мікроорганізмів використовували відповідні поживні середовища, а також посіви інкубували в анаеростаті без повітря з комерційними пакетами Anaerobes upplement (виробництво BD Difco) для редукції середовища.

Для встановлення раціонального складу фармацевтичної композиції було виготовлено зразки таблеток наступних складів:

Було виготовлено кілька зразків таблеток з наступним складом:

1. склад таблеток № 1: фламіну 0,05 г, лавандової олії 0,02 г
2. склад таблеток № 2: фламіну 0,04 г, лавандової олії 0,015 г
3. склад таблеток № 3: фламіну 0,04 г, лавандової олії 0,025 г.

В якості допоміжних речовин до складу таблеток входили крохмаль кукурудзяний, магнія стеарат. Дослідні зразки розчиняли у боратному буфері з рН $9,5 \pm 0,5$ та після повного розчинення підводили рН до 7,2-7,4. Готували відповідні концентрації з шагом 50 мг/мл. Концентрація речовин складала 1) 1000 мкг/мл; 2) 950 мкг/мл; 3) 900 мкг/мл; 4) 850 мкг/мл; 5) 800 мкг/мл; 6) 750 мкг/мл; 7) 700 мкг/мл; 8) 650 мкг/мл; 9) 600 мкг/мл; 10) 550 мкг/мл; 11) 500 мкг/мл; 12) 450 мкг/мл; 13) 400 мкг/мл; 14) 350 мкг/мл; 15) 300 мкг/мл; 16) 250 мкг/мл; 17) 200 мкг/мл; 18) 150 мкг/мл; 19) 100 мкг/мл.

Результати та обговорення

В результаті досліджень у хворих на холецистит та холангіт із жовчі було виділено 61 штам мікроорганізмів. Серед пацієнтів з патологією ГБС мікрофлора вилучалась із жовчі в монокультурі. У 6 (11,2 %) хворих на холецистит та холангіт вони була виділена в асоціації. Всі мікроорганізми були ідентифіковані за морфологічними, фізіологічними та біохімічними властивостями. (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст мікрофлори жовчі у хворих на холецистит та холангіт

Штами мікроорганізмів	Кількість мікроорганізмів	
	абсолютна	відносна, %
<i>S. aureus</i>	6	9,9
<i>S. epidermidis</i>	5	8,2
<i>S. agalactiae</i>	4	6,5
<i>E. faecalis</i>	5	8,2
<i>E. coli</i>	9	14,8
<i>K. pneumoniae</i>	5	8,2
<i>E. cloacae</i>	6	9,9
<i>C. albicans</i>	10	16,5
<i>P. niger</i>	1	1,6
<i>P. anaerobius</i>	2	3,2
<i>Fusobacterium spp.</i>	3	4,8
<i>B. fragilis</i>	5	8,2
Всього	61	100

Дані, які наведені в таблиці 1 показують, що найбільша частка належала *E. coli* (14,8 %), *E.*

cloaceae (9,9 %), *S. aureus* (9,9 %), *K. pneumoniae* (8,2 %), *C. albicans* (16,5 %). Також були виділені *S. epidermidis* (8,2 %), *E. faecalis* (8,2 %), *S. agalactiae* (6,5 %). Частка анаеробних мікроорганізмів складала 17,8 %: *P. niger* (1,6 %), *P. anaerobius* (3,2 %), *Fusobacterium spp* (4,8 %), *B. fragilis* (8,2 %). Дослідження на чутливість до антибактеріальних препаратів показало, що більшість штамів були чутливими до антибіотиків останніх поколінь: максипін, медоцеф,

гатифлоксацин, азітроміцин, орнідазол.

Тест-штами та вилучені клінічні штами мікроорганізмів від хворих на холецистит і холангіт були досліджені на чутливість до комбінованого препарату у формі таблеток з фламіном та лавандовою олією з визначенням бактеріостатичних концентрацій - МПК (мінімально-пригнічуючої концентрації) складу таблеток № 1, № 2, № 3 (табл. 2).

Таблиця 2. МПК фламіну та його композицій до тест-штамів та клінічних ізолятів мікроорганізмів

Штами мікроорганізмів	МПК, мкг/мл таблеток		
	№ 1	№ 2	№ 3
Тест-штами			
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	250	350	350
<i>E. coli</i> ATCC 25922	350	450	450
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	750	> 1000	> 1000
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	850	> 1000	> 1000
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	250	350	350
<i>C. albicans</i> ATCC 885/653	300	450	450
Клінічні штами			
<i>S. aureus</i>	300	400	450
<i>S. epidermidis</i>	200	300	300
<i>S. agalactiae</i>	350	450	500
<i>E. faecalis</i>	350	550	500
<i>E. coli</i>	350	550	500
<i>K. pneumoniae</i>	300	500	450
<i>E. cloaceae</i>	400	600	650
<i>C. albicans</i>	350	550	500
<i>P. niger</i>	250	400	350
<i>P. anaerobius</i>	300	450	500
<i>Fusobacterium spp.</i>	300	500	450
<i>B. fragilis</i>	350	500	450

Дані, які наведені в таблиці 2 наглядно демонструють, що склад зразку № 1 (фламіну 0,05 г, лавандової олії 0,02 г), який був обраний для подальшого дослідження проявляє бактеріостатичну дію по відношенню до широкого кола мікроорганізмів, як серед тест штамів так і для клінічних ізолятів, а також грибів роду *Candida*. МПК для *S. aureus* ATCC 25923 складала 250 мкг/мл на відміну від таблеток № 2 та № 3 - 350 мкг/мл, для *S. epidermidis* 200 мкг/мл, для *S. agalactiae* та *E. faecalis* 300 мкг/мл, для *E. coli* ATCC 25922 - 350 мкг/мл, тоді як інші композиції показували 450 мкг/мл. МПК таблетки № 1 для *P. aeruginosa* ATCC 27853 складала 750 мкг/мл, для *P. vulgaris* ATCC 4636 - 850, а МПК таблеток № 2 та №

3 був вищий > 1000 мкг/мл. Для *B. subtilis* ATCC 6633 МПК таблетки № 1 реєструвалась на рівні 250 мкг/мл на відміну від таблеток № 2 та № 3 - 350 мкг/мл, для *C. albicans* ATCC 885/653 300 мкг/мл, тоді як для двох інших зразків 450 мкг/мл. Для анаеробних мікроорганізмів (*P. niger*, *P. anaerobius*, *Fusobacterium spp*, *B. fragilis*) – 400 мкг/мл. Для клінічних штамів *C. albicans* МПК зразка № 1 складала 300 мкг/мл, для інших зразків (№ 2 та № 3) -500 мкг/мл.-

Підсумовуючи результати проведених експериментальних досліджень комбінованих таблеток зі складом фламіну та лавандовою олією можна заключити, що найбільш ефективними по відношенню до різноманітних клінічних штамів мікроорганізмів та грибів є комбінація фламіну

0,05 г лавандової олії 0,02 г (таблетки № 1), що дає можливість розробити комбінований препарат для терапевтичного застосування при патології гепато-біліарної системи (ГБС). Рослинна субстанція фламіну в поєднанні з лавандовою олією дозволила розширити спектр дії останнього за рахунок власних антибактеріальних властивостей. Терапевтична доза фламіну 0,05 г у складі таблеток поліпшить тяжкість побічних проявів та зменшує навантаження хіміотерапевтичних препаратів.

References

1. Liang, T. B. Sphincter of Oddi laxity: An important factor in hepatolithiasis [Text] / T.B. Liang, Y. Liu, X. L. Bail // World J. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16 (8). – P. 1014–1018.
2. Portincasa, P. Intestinal absorption, hepatic synthesis, and biliary secretion of cholesterol: where are we for cholesterol gallstone formation? [Text] / P. Portincasa, D.Q. Wang // Hepatology. – 2012. – Vol. 55 (5). – P. 1313-1316.
3. Chen, L.Y. Metabolic syndrome and gallstone disease [Text] / L.Y. Chen, Q.H. Qiao, S.C. Zhang, Y.H. Chen, G.Q. Chao, L.Z. Fang // World J. Gastroenterol. – 2012. – 18(31). – P. 4215–4220.
4. Bobritskaya, L.A. Marketing research of the market of drugs with the choleric action / L.A. Bobritskaya, M.A. Arakelyan, N.V. Popova // News of pharmacy. – 2014. – 2(78). – P. 63-67.
5. Bobritskaya, L.A. Scientific - practical reasoning technology of solid dosage forms with antibacterial and antiviral actions : dis. for the degree of doctor of pharmac. Sciences : 15.00.01 [Text] / L.A. Bobritskaya. - Kharkov, 2014. – 351.
6. Prusinowska, R. Composition, Biological Properties and Therapeutic Effects of Lavender (*Lavandula Angustifolia* L) [Text] / R. Prusinowska, Krzysztof B. Śmigielski // A Review, Herbal Polonica. – 2014. - № 60 (2). - P. 56-66 Access mode <http://www.degruyter.com/view/j/hepo.2014.60.issue-2/hepo-2014-0010/hepo-2014-0010.xml>.
7. Bobritskaya, L. A Antibacterial properties of pharmaceutical compositions with ornidazole and flamin [Electronic resource] [Text] / L. A. Bobritskaya, H. A. Ruban, T. P. Osolodchenko, O. N. Shcherbak, D. I. Dmitrievskiy // Annals of Mechnikov Institute. - 2013. - № 1. - P. 27 - 31. – Access mode: http://nbuv.gov.ua/j-pdf/ami_2013_1_6.pdf www.imiamn.org.ua/journal.htm.
8. On approval guidelines "Determining the sensitivity of microorganisms to antibiotics": Decree of the Ministry of Health of Ukraine of 05.04.2007. № 167 [Electronic resource] / -Access: <http://mozdocs.kiev.ua/view.p-6958>.
9. The Order of USSR Ministry of Health, 22.04.1985 About unification of microbiological (bacteriological) research methods that are used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions [Electronic resource]. - Access mode: zakon.law7.ru/legal2/se4/pravo4231/page12.htm.

UDC 615.28:615.453.42

ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF PHARMACEUTICAL COMPOSITION OF HEPATOPROTECTORS

Aslanian M. A.*, Bobrytska L.O. *, Osolodchenko T.P.

Pathology problem of hepatobiliary system (HBS) of contagious origin becomes relevant with the increase of disturbance and complications of lipid metabolism and bile pigments among young people. Leading role in prophylaxis and treatment in the context of this pathology belongs to antibacterial chemotherapeutic agents. However, along with antimicrobial activity, numerous side effects can be observed during treatment with antibacterial agents. According to the recent study on hepatobiliary system (HBS), therapeutic effect can be seen only while using herbal medicine with choleric action as well as their various compositions. Amount of medicine with the appropriate effect is insufficient, that is why the study was conducted towards finding effective combinations of plant substances of different groups for the purpose of creating an effective medicine for treatment of hepatobiliary system (HBS) of contagious origin. **Aim of the work** The purpose of study was to examine antibacterial properties of different combinations with flamin and lavender oil in combined medicine during the course of treatment of cholecystitis and cholangitis. **Materials and methods.** It the result of study 61 microbial strains were distinguished and identified from the pathological material taken from 53 patients with cholecystitis and cholangitis. All distinguished clinical microbial strains taken from the patients were tested for sensitivity to combined medicine in the form of tablets with flamin and lavender oil. Minimal inhibitory concentration for *S. aureus* ATCC 25923 amounted to 250-350 ug/ml, for *E. coli* ATCC 25922 - 350±50,0 ug/ml, for *P. aeruginosa* ATCC 27853 750±100,0 ug/ml, for *P. vulgaris* ATCC 4636 - 850±100,0 ug/ml, minimal inhibitory concentration to the tablets № 2 та № 3 amounted to > 1000 мкг/мл. Minimal inhibitory concentration for *B. subtilis* ATCC 6633 amounted to 250±50,0 ug/ml, for *C. albicans* ATCC 885/653 300±50,0 ug/ml. Compared to the tablets No. 2 and No. 3, where minimal inhibitory concentration was higher and amounted to 350-550 ug/ml. **Results and discussion.** Minimal inhibitory concentration for *S. aureus* amounted to 250-300 ug/ml, for *S. epidermidis* 150-250 ug/ml, for *S. agalactiae* and *E. faecalis* 300-400 ug/ml, for *E. coli*, *K. pneumonia*, *E. cloacae* – 400-750 ug/ml. Minimal inhibitory concentration for anaerobic bacteriae (*P. niger*, *P. anaerobius*, *Fusobacterium spp*, *B. fragilis*) -300-550 ug/ml, minimal inhibitory concentration to the tablets № 2 та № 3 amounted to 450-650ug/ml. Minimal inhibitory concentration for *C. albicans* 300-400 ug/ml. Compared to the tablets No. 2 and No. 3, where minimal inhibitory concentration was higher and amounted to 450-600 ug/ml. To sum up the results of the conducted experimental studies of combined capsules with flamin and lavender oil we can make a conclusion that the most effective against the different

clinical microorganism and fungi strains is a combination of flamin 0.05 g, 0.02 g lavender oil (tablets No. 1), which makes it possible to prepare combined medicine for pathologies of hepatobiliary system (HBS). **Conclusions.** To sum up the results of experimental studies of combined capsules which consist of flamin and lavender oil we can make a conclusion that the most effective remedy for different clinical microorganism and fungi strains is a combination of flamin 0.05 g, 0.02 g lavender oil (tablets No. 1), which gives the opportunity to prepare combined medicine for pathologies of hepatobiliary system (HBS).

Key words: antibacterial properties, hepatoprotectors, lavender oil, flamin, tablets