

УДК 615.281.9

ПРОТИМІКРОБНІ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІКАРСЬКИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Палій Д. В., Назарчук О. А., Береза Б. М.

Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова

Інфекція є причиною різних гнійно-запальних хірургічних захворювань, і багаточисельних післяопераційних ускладнень (нагноєння післяопераційної рани, хірургічний сепсис, септичний шок та ін.). Майже 17% летальних випадків після планових операцій обумовлено гнійно-септичними ускладненнями. В сучасній клінічній практиці актуальною проблемою залишається антибіотикорезистентність збудників гнійно-запальних захворювань, яка диктує необхідність пошуку і впровадження нових високоефективних антимікробних препаратів. Існуючі методики антибактеріальної терапії та профілактики недостатньо ефективні. Це ускладнює комплекс профілактичних та лікувальних заходів по боротьбі з гнійно-запальними захворюваннями, призводить до погіршення якості життя хворих [1].

Сучасні підходи до профілактики, лікування гнійно-запальних захворювань спрямовані на обґрунтування застосування нових медичних технологій, в тому числі, антисептиків в різних лікарських формах. Розробка та впровадження антисептичних лікарських препаратів, які створюють діючі концентрації лікарських засобів у вогнищі запалення, знаходиться у центрі уваги науковців і лікарів. Перспективною залишається розробка, впровадження композиційних антисептичних лікарських засобів в хірургії, які створюють ефективні профілактичні, терапевтичні концентрації антисептиків в інфекційному вогнищі. Ефективними антисептиками є поверхнево-активні речовини, відомі широким спектром бактерицидної, віруліцидної, фунгіцидної дії, здатні зменшувати адгезивні властивості бактерій та руйнувати мікробні токсини [1 - 3].

Протимікробна ефективність антисептичних лікарських засобів залежить не тільки від широти спектру дії, але і від тривалості протимікробної дії, хімічної інертності компонентів лікарського препарату. Поряд з вивченням протимікробних властивостей антисептичних засобів, важливим є дослідження їх якісного та кількісного хімічного складу. Одним із сучасних методів дослідження вважають маспектрометричний метод, який застосовують для ідентифікації та оцінки нових лікарських препаратів. Даний метод знайшов широке застосування у дослідженнях великої кількості фармацевтичних препаратів різних груп (антисептики, транквілізатори, антигістамінні, тощо).

Маспектрометричний метод є придатним для аналізу лікарських засобів, в тому числі, декаметоксину, палісану, оскільки він дозволяє отримувати інформацію у разі неможливості її отримання класичними мікробіологічними методиками [4].

В процесі конструювання, виготовлення та випробовування комплексних препаратів на основі декаметоксину, в тому числі, палісану для потреб медицини, ветеринарії завжди постають питання сумісності окремих інгредієнтів, підбору найбільш оптимальних складових та їх концентрацій, що зумовлює необхідність використання сучасних методик кількісного та якісного аналізу, в тому числі маспектрометрії, поряд з традиційними мікробіологічними, біохімічними, фармакологічними та фармацевтичними методиками.

Мета. Вивчити протимікробні, фізико-хімічні властивості антисептичних препаратів декаметоксину.

Матеріали і методи

Для дослідження використовували суміші декаметоксину з перекисом водню, поліглюкіном, полівінілпіролідом, полівініловим спиртом. Кількісне визначення вмісту декаметоксину виконували відповідно до ФС 42У-46-152-97 Decamethoxinum. Декаметоксин.

Вивчення антимікробної активності складових палісану проводили методом послідовних серійних розведень з визначенням мінімальних бактерицидних концентрацій (МБЦК). Антимікробну активність декаметоксину (ДКМ), палісану, декасану, десептолу вивчали на еталонних штаммах мікроорганізмів музею кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; клінічних штаммах *S.aureus* (n 56), *S.epidermidis* (n 26), *E.coli* (n 24), *P.mirabilis* (n 11), *P.vulgaris* (n 8).

За допомогою маспектрометричного методу визначали масу лікарських антисептичних препаратів шляхом вимірювання величини відношення m/n – співвідношення маси (m) до заряду (n) іону, отриманого методом іонізації досліджуваної речовини. Маспектрометричні дослідження проводили з використанням часопролітного маспектрометру МСБХ-01 (“Selmi”) з іонізацією зразка осколками ділення каліфорнію (252) за методикою плазмено-десорбційної маспектрометрії (ПДМС) по Р. Макфарлейну. Зразки палісану наносили на позолочений пробонесучий диск і висушували на повітрі. Одночасно наносили 10-12 проб, що забезпечувало ідентичність зняття спектрів. Вибиті з проби іони прискорювались в електричному полі і розділялись за масами під час дрейфу у вакуумній камері до “стопового детектору”.

Результати обробляли з використанням комп’ютерних програм. Роздільна здатність приладу за масами – 1000. Діапазон досліджень мас від 1 до 20000 дальтон. Поріг чутливості по бичачому інсуліну 1 pmol, прискорюючі напруги до 30 kV, відносна

похибка вимірювань мас – в діапазоні 1-6 тисяч дальтон – 0,01%.

Результати та обговорення

В дослідженні встановлено високу протимікробну дію декаметоксину. Зокрема, ДКМ проявляв бактерицидну *S.aureus* ATCC 25923 (МБцК 6,95 мкг/мл). Висока чутливість в *E.coli* ATCC 25922 була встановлена до ДКМ в (МБцК 9,5 мкг/мл). *P.aeruginosa* ATCC 27853 виявляла чутливість до ДКМ в присутності 39,1 мкг/мл. Фунгіцидну дію ДКМ на *C.albicans* ЛИА-01 встановили в концентраціях 11,1 мкг/мл. За даними досліджень визначили, що розчин

перекису водню володів слабшою протимікробною активністю на ті ж самі умовнопатогенні мікроорганізми, в порівнянні з ДКМ. Встановлено, що антисептик палісан найкраще діяв дані види мікроорганізмів. Бактерицидну дію палісану щодо стафілококу встановили в концентраціях 2,1 мкг/мл. Палісан статистично вірогідно переважав за протимікробними властивостями щодо всіх мізейних штамів мікроорганізмів декаметоксин на 210-680 % ($p < 0,05$). В той час, як розчин перекису водню поступався палісану на 510-3760 % в залежності від виду мікроорганізму (табл. 1).

Таблиця 1. Порівняльна бактерицидна дія ДКМ, перекису водню, палісану (мкг/мл)

Мікроорганізм	ДКМ 0,01%	Палісан 0,2%	Перекис водню 0,2%	Ефективність	
				%, p*	%.p**
	МБцК-МФцК				
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	6,95	2,1	26,0	330 p<0,05	1280 p<0,01
<i>E.coli</i> ATCC 25922	9,5	1,4	31,3	680 p<0,05	2230 p<0,01
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	39,1	0,69	26,0	566 p<0,01	3760 p<0,01
<i>C.albicans</i> ЛИА-01	11,1	0,52	28	210 p<0,01	510 p<0,05

*- палісан в порівнянні до ДКМ; **- палісан в порівнянні до перекису водню

Проведене порівняльне дослідження антисептичних лікарських засобів показало високі протимікробні властивості палісану на музейні і клінічні штами грамозитивних і грамнегативних мікроорганізмів. Чутливість *S.aureus* до палісану (МБцК 0,12-0,97 мкг/мл) дещо була вищою ніж до ДКМ (МБцК 0,24-1,95 мкг/мл). Клінічні штами

стафілококу виявились високо чутливими до декасану (0,12-1,95 мкг/мл) і десептолу (0,48-0,97 мкг/мл).

В дослідженні встановили високу чутливість ентеробактерій до препаратів декаметоксину. Клінічні штами *E.coli* проявляли найкращу чутливість до декасану (3,9-7,8 мкг/мл; табл 2).

Таблиця 2-Протимікробна активність антисептиків *- в порівнянні з декаметоксином

Мікроорганізми	Кількість штамів	Декаметоксин	Декасан	Палісан	Десептол
		МБцК препаратів, мкг/мл			
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1	0,24	0,24	0,24	0,48
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1	15,6	7,8	1,95	3,9
<i>C.albicans</i> CCM 885	1	3,9	1,95	1,95	3,9
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	1	125	125	31,2	62,5
<i>B.fragilis</i> ATCC 25285	1	15,6	15,6	7,8	31,2
<i>P.morgani</i> 1707	1	3,9	15,6	3,9	7,8
<i>B.antracoides</i> 1312	1	0,97	1,95	0,48	1,95
<i>B.megaterium</i> 89	1	31,2	15,6	7,8	15,6
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	1	0,48	0,97	0,24	3,9
<i>S.faecalis</i> ATCC 29212	1	0,97	1,95	0,48	0,97

<i>S.aureus</i>	56	1,45±0,6	2,11±0,12	1,1±0,09	1,18±0,08
<i>p*</i>		-	>0,05	>0,05	>0,05
<i>S.epidermidis</i>	26	1,21±0,16	1,44±0,14	1,28±0,15	1,32±0,12
<i>p*</i>		-	>0,05	>0,05	>0,05
<i>E.coli</i>	24	5,27±0,62	5,8±0,5	6,23±0,57	7,74±0,64
<i>p*</i>			>0,05	>0,05	<0,05
<i>P.mirabilis</i>	11	107,95±8,8	95,45±4,54	59,66±2,84	90,9±9,84
<i>p*</i>		-	>0,05	<0,001	>0,05
<i>P.vulgaris</i>	8	109,38±10,23	93,75±6,25	54,69±5,11	93,75±11,8
<i>p*</i>		-	>0,05	<0,001	>0,05

Однаковими бактерицидними властивостями володіли палісан і десептол, які не відрізнялись від активності ДКМ, про що свідчать однакові бактерицидні концентрації препаратів (7,8-15,6 мкг/мл).

Варто зазначити, що в дослідженні палісан продемонстрував гарні протимікробні властивості щодо клінічних штамів *P.vulgaris*, *P.mirabilis*. Згубну дію на протеї визначали при застосуванні 31,2-62,5

мкг/мл палісану. У ДКМ, декасану, десептолу протимікробна дія на клінічні штами *P.vulgaris*, *P.mirabilis* була встановлена в присутності МБЦК 62,5-125 мкг/мл, та не перевищували 250 мкг/мл (табл 2).

Отримані дані стали підставою для проведення маспектрометричного дослідження (рис. 1, 2).

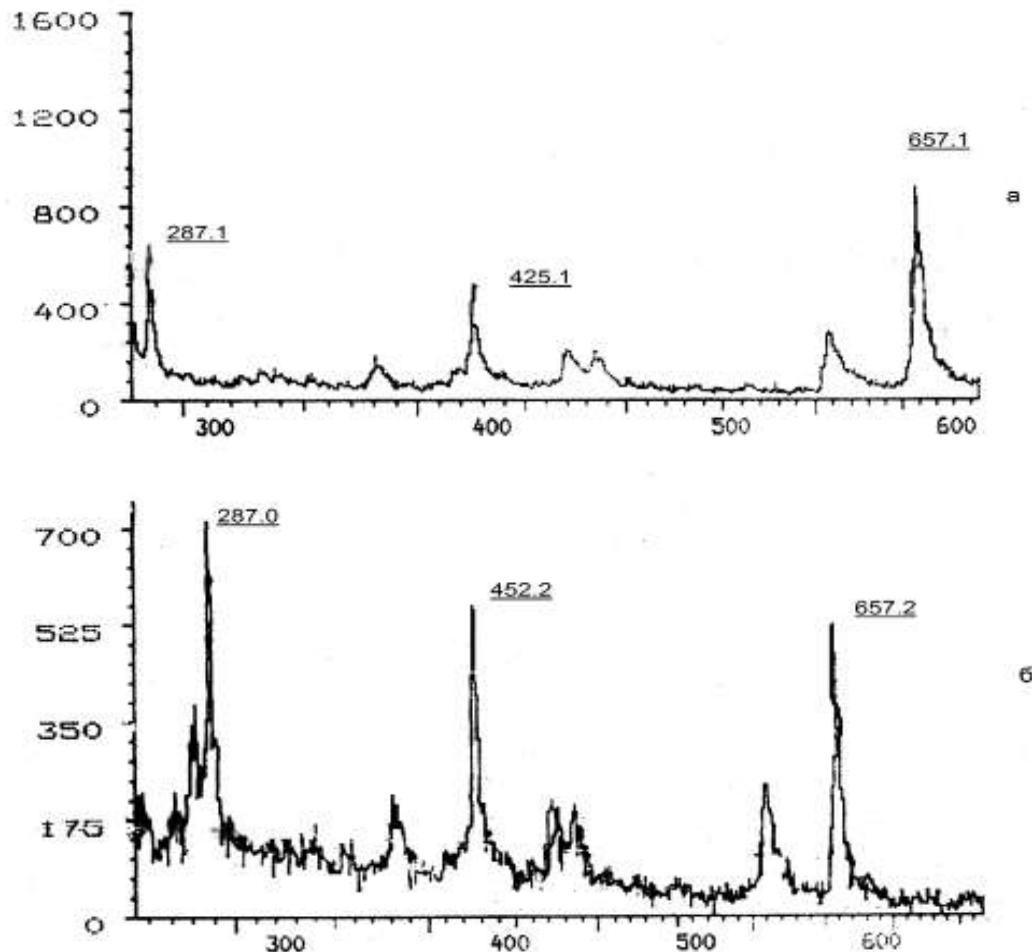


Рис.1. Маспектрометричний аналіз антисептиків: а – маспектр 0,0066% розчину ДКМ в воді; б – маспектр лікарської композиції ДКМ (0,0066%) та перекису водню (0,2%). Видно характерні піки ДКМ.

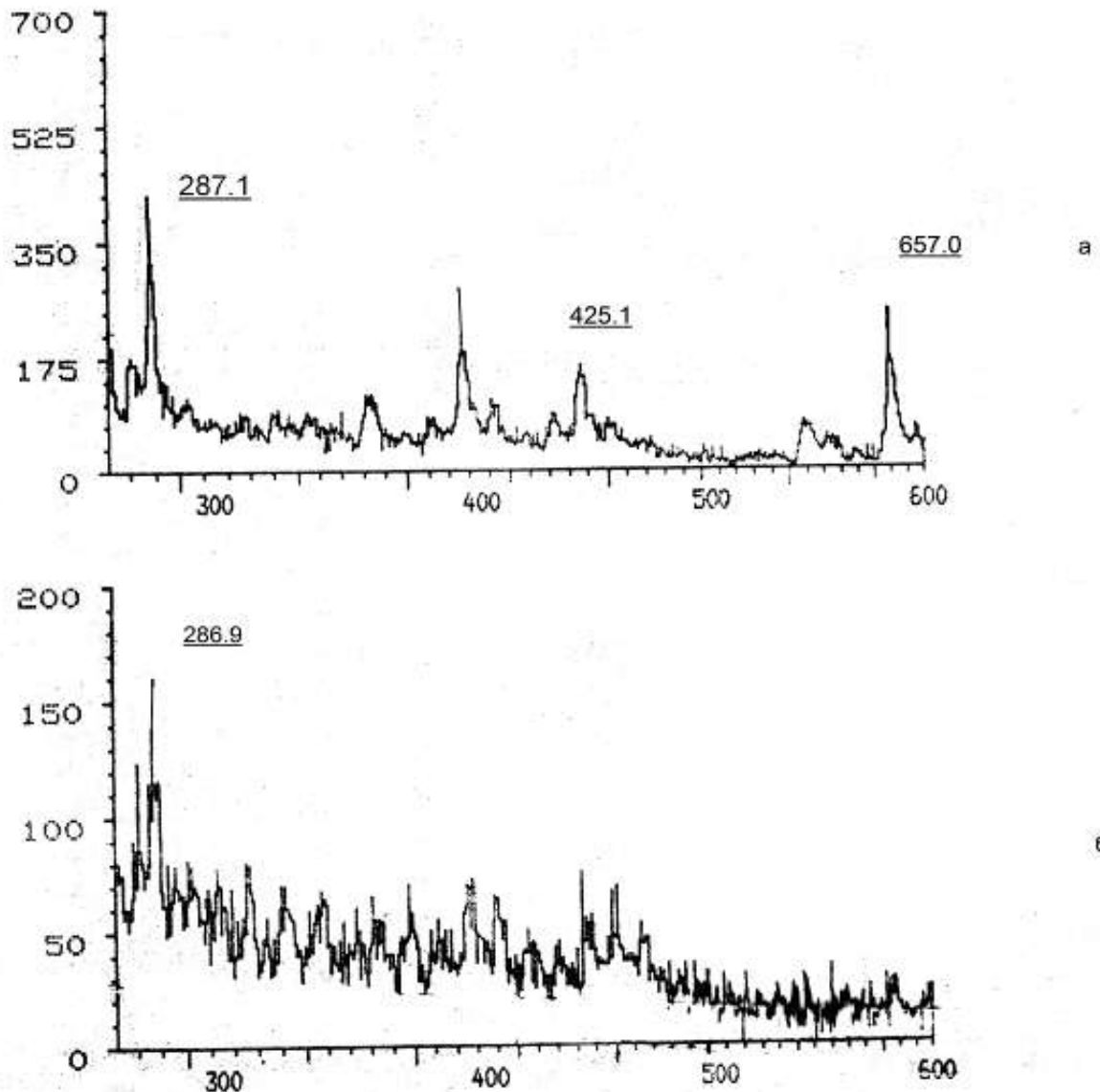


Рис.2. Масспектрометричний аналіз антисептиків: а – масспектр лікарської композиції ДКМ (0,0066%) і перекису водню (0,05%) після шести місяців зберігання; б – масспектр лікарської композиції ДКМ (0,0066%) і перекису водню (0,1%) після шести місяців зберігання. Молекула ДКМ зруйнована.

В результаті проведеного масспектрометричного дослідження антимікробних композицій з постійною концентрацією декаметоксину (0,0066%) і різними концентраціями перекису водню (0,00625%; 0,0125%; 0,025%; 0,05%; 0,1%; 0,2%) встановили, що при вмісті перекису водню 0,2% в складі композиції при однакових умовах зберігання молекула декаметоксину руйнувалася через 3 місяці; при вмісті 0,1 % перекису водню – протягом 6 місяців.

Застосування 0,05 % перекису водню і менших концентрацій визначили, що декаметоксин

зберігався протягом тривалого часу (1 рік). Водночас, при тривалому зберіганні лікарської композиції, спостерігали розкладання перекису водню і значне зменшення його вмісту в палісані (рис.1,2).

Встановлено, що маса молекулярного іону ДКМ дорівнювала 693 дальтон. Для масспектру ДКМ були характерні наявність піків m/n : 657,5 дальтон, тобто, молекулярний іон ДКМ без одного атому хлору з характерними осколочними іонами m/n 287 і 425 дальтон. Поява молекулярного іону ДКМ у з вказаними осколочними іонами m/n 287 і 425 дальтон останніх була зумовлена структурною будовою

молекули ДКМ. Окрім цих піків в маспектрах знаходили піки вихідних продуктів синтезу декаметоксину (ментол - m/n 158 дальтон, тетраметилдіамінодекану - 228 дальтон, ментилмонохлорацетату з атомом калію - 271 дальтон; рис. 1, 2).

Визначили, що зниження концентрації перекису водню нижче 0,1 % не забезпечувало антисептику достатній рівень антимікробної активності препарату. Тому, недоцільно застосовувати такі пропорції для профілактики та лікування. Концентрації перекису водню вище 0,1 %, при зберіганні в складі палісану більше трьох місяців, руйнують молекулу декаметоксину. Це обґрунтовує необхідність виготовлення лікарської антимікробної композиції палісан в двох ємкостях і передбачає приготування ex tempore.

Висновки

Серед синтетичних четвертинних амонієвих сполук виявили речовину (комерційна назва препарату декаметоксин) з високою протимікробною активністю щодо штамів грамнегативних, грампозитивних мікроорганізмів, *C.albicans*. Лікарські форми декаметоксину є складними фізико-хімічними системами, оскільки різна природа і кількість допоміжних речовин, що використовують при їх виготовленні.

Антисептик палісан має потужну антимікробну дію, в порівнянні з ДКМ тієї ж концентрації. Мікробіологічні, маспектрометричні характеристики антисептичних препаратів ДКМ, палісану обґрунтовують склад діючих компонентів та їх концентрації, необхідність виробляти препарат в двох флаконах та змішувати їх ex tempore перед застосуванням.

Перспективи подальших розробок

Маспектрометричний метод дослідження доцільно в подальшому застосовувати для вивчення фізико-хімічних властивостей нових лікарських антисептичних препаратів. Активне вивчення ефективності сучасних антисептичних лікарських засобів та їх подальше впровадження в клінічну практику.

References

1. Kovalchuk V. P. New antiseptics of domestic production. Comparable characteristic of antimicrobial activity [Text] / V. P. Kovalchuk, V. M. Kondrtyjk. – Art of treatment. – No 26. – 2009. – P. 4 – 8.
2. Zarits'kiy O. N. Use of decamethoxin for disinfection in in conditions of surgical hospital [Text] / O. N. Zarits'kiy, I. N. Grabik // Materials of scientific conference of Institute of Ecohygiene and Toxicology named after L. I. Medved. – Kyiv, 2003. – P. 315 – 316.
3. Antiseptics in prophylaxis and treatment of infections [Text] / G. K. Paliy, T. O. Koget, V. G. Paliy et al.. – Kyiv: Zdorov'ya, 1997. – 201 p.

4. Mass spectrometry study of antimicrobial medicine of decamethoxin [Text] / L. F. Suchodub, M. V. Kosevych, V. S. Shelkovskiy, Yu. L. Volyanskiy // Antibiotics and chemotherapy. - 1989. – Vol.34., No11. – P. 823 – 827.

УДК 615.281.9

ПРОТИМІКРОБНІ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІКАРСЬКИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Палій Д. В., Назарчук О. А., Береза Б. М.

В роботі представлені результати дослідження протимікробних, фізико-хімічних властивостей антисептичних препаратів декаметоксину (ДКМ). Вивчена антимікробна активність ДКМ, палісану, декасану, десептолу методом послідовних серійних розведень на штаммах *S.aureus* (n 56), *S.epidermidis* (n 26), *E.coli* (n 24), *P.mirabilis* (n 11), *P.vulgaris* (n 8). За даними маспектрометричного дослідження антимікробних композицій з постійною концентрацією ДКМ встановлено, що лікарські форми ДКМ є складними фізико-хімічними системами, оскільки різна природа і кількість допоміжних речовин, що використовують при їх виготовленні. Серед синтетичних четвертинних амонієвих сполук виявили речовину (комерційна назва препарату декаметоксин) з високою протимікробною активністю щодо штамів грамнегативних, грампозитивних мікроорганізмів, *C.albicans*. Встановили, що антисептик палісан має потужну антимікробну дію, в порівнянні з ДКМ тієї ж концентрації. На основі мікробіологічних, маспектрометричних характеристик антисептичних препаратів ДКМ, палісану обґрунтовано склад та концентрації діючих компонентів, особливості приготування та застосування антисептичного лікарського засобу палісан.

Ключові слова: антисептики, декаметоксин, декасан, палісан, маспектрометрія.

УДК: 615.281.9

ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Палий Д. В., Назарчук А. А., Береза Б. Н.

В работе представлены результаты исследования противомикробных, физико-химических свойств антисептических препаратов декаметоксина (ДКМ). Изучена антимикробная активность ДКМ, палисана, декасана, десептола методом последовательных серийных разведений на штаммах *S.aureus* (n 56), *S.epidermidis* (n 26), *E.coli* (n 24), *P.mirabilis* (n 11), *P.vulgaris* (n 8). Полученные данные маспектрометричного исследования антимикробных композиций с постоянной концентрацией ДКМ показали, что лекарственные формы ДКМ являются сложными физико-химическими системами, поскольку разная природа и количество вспомогательных веществ, используемых при их изготовлении. Среди синтетических четвертинных

аммониевых соединений определили вещество (коммерческое название препарата декаметоксин) с высокой противомикробной активностью в отношении штаммов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, *C.albicans*. Установили, что антисептик палисан имеет выраженное антимикробное действие, в сравнении с ДКМ той же концентрации. На основании микробиологических, масспектрометрических характеристик антисептических препаратов ДКМ, палисана обосновано состав и концентрации действующих компонентов, особенности приготовления и использования антисептического лекарственного средства палисан.

Ключевые слова: антисептики, декаметоксин, декасан, палисан, масспектрометрия.

UDC 615.281.9

ANTIMICROBIAL, PHYSICAL AND CHEMICAL QUALITIES OF MEDICINAL ANTISEPTIC DRUGS

Paliy D. V., Nazarchuk O. A., Bereza B. N.

In our research results of the study of antimicrobial, physical and chemical qualities of antiseptic medicines of decamethoxin (DCM). Antimicrobial activity of DCM, palisan, decasan, deseptol against strains of *S.aureus* (n 56), *S.epidermidis* (n 26), *E.coli* (n 24), *P.mirabilis* (n 11), *P.vulgaris* (n 8) was studied by means of method of serial dilutions. Obtained data of mass spectrometry study of antimicrobial compositions with constant concentrations of DCM have shown that medicinal forms of DCM are complex physical and chemical systems, because of different origin and number of adjuvant ingredients used during their fabrication. Among synthetic quaternary ammonium agents there have been found the substance (commercial name of medicine is decamethoxin) to have high antimicrobial activity against strains of gram-positive and gram-negative microorganisms, an also *C.albicans*. There was found that antimicrobial activity of antiseptic palisan had been higher comparably to DCM in equivalent concentration. The composition and concentrations of acting agents and the methodology of preparation of palisan have been substantiated on the basis of microbiological, mass spectrometry characteristics of antiseptics DCM, palisan.

Key words: antiseptics, decamethoxin, decasan, palisan, mass spectrometry.