

АНТИМІКОТИЧНА АКТИВНІСТЬ ГЕЛІВ КЛОТРИМАЗОЛУ ТА БІФОНАЗОЛУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ЧАСУ ВИВІЛЬНЕННЯ

Н.П.Половко, О.Г.Башура, О.П.Стрілець

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: протигрибкові препарати; біофармацевтичні та мікробіологічні дослідження

Найбільш поширеною серед м'яких лікарських форм поряд з мазями та кремами є гелі, які випускаються переважно на основі похідних поліакрилової кислоти. Незважаючи на цілий ряд переваг водних гелів, вони обмежують можливість введення значної кількості ліпофільних лікарських субстанцій, наприклад, похідних імідазолу — клотримазолу, кетоконазолу, біфоназолу та інших протигрибкових субстанцій. З метою розробки оптимального складу гелів на основі гідрофільних неводних розчинників нами була досліджена антимікотична активність гелів клотримазолу та біфоназолу в залежності від часу вивільнення методом *in vitro*. Встановлена динаміка вивільнення лікарських субстанцій із гелевої основи на тест-штамах *S.albicans* та *A.niger*. Визначено, що вивільнення клотримазолу та біфоназолу розпочинається на 20 хв експерименту і продовжується протягом всього періоду дослідження. Отримані результати підтверджують перспективність використання гелю карбомера на гідрофільних неводних розчинниках як основи противоогрибкових лікарських засобів.

Широке розповсюдження мікозів обумовлює актуальність пошуку нових протигрибкових субстанцій та вдосконалення складу існуючих лікарських засобів насамперед за рахунок оптимізації складу основи з урахуванням таких властивостей як тип дисперсної системи, рН, структурно-механічні, осмотичні властивості, природа носія тощо [4-7].

Для дослідження з метою впровадження в практичну медицину протигрибкових препаратів нами обрано похідні імідазолу — клотримазол та біфоназол, які, незважаючи на появу антимікотиків III та IV поколінь, користуються значним попитом на фармацевтичному ринку [4, 6]. Це пов'язано з досить широким спектром їх антимікотичної дії, доброю переносимістю та низькою токсичністю (насамперед за рахунок того, що вони не поступають у системний кровотік), а також відносною простотою їх виробництва та дешевизною. Як і інші похідні азолів, клотримазол та біфоназол інгібують біосинтез ергостерину, змі-

нюють ліпідний склад мембрани, що забезпечує їх фунгістатичний ефект [4]. Проведені за останні роки біофармацевтичні дослідження вказують на те, що повнота вивільнення діючих речовин залежить від складу основи м'якої лікарської форми (МЛФ). Допоміжні речовини значно впливають на терапевтичний ефект лікарських засобів [2, 3]. Крім того, відомо, що найбільш ефективний терапевтичний ефект забезпечується при наявності лікарської речовини в МЛФ в розчинному стані. Враховуючи гідрофобні властивості вказаних субстанцій, препарати на їх основі випускаються у формі мазей та кремів [4]. У теперішній час все більшою популярністю серед МЛФ користуються гелі, так як вони більш повно та рівномірно вивільняють лікарські речовини, володіють помірними осмотичними властивостями, легко наносяться та всмоктуються шкірою, не залишають на ній жирного блиску, проявляють охолоджуючий, зволожуючий та пом'якшуючий ефект, економіч-

но доступні тощо [9]. Однак ліпофільні властивості похідних імідазолу обмежують можливість їх введення до складу гелів. Тому нами були проведені дослідження з розробки складу гелевої основи на гідрофільних неводних розчинниках, до складу якої лікарські субстанції вводили після попереднього розчинення у пропіленгліколі.

Мета дослідження полягала у вивченні антимікробної активності гелів клотримазолу та біфоназолу в залежності від часу вивільнення методом *in vitro*.

Матеріали та методи

Процес вивільнення лікарських речовин із гелю контролювали за допомогою тест культур *S.albicans* ATCC 885-653 та *A.niger* ATCC 16404. Культуру протягом доби вирощували на поживному середовищі — агарі при 37°C. Біомасу змивали з агару ізотонічним розчином і за допомогою оптичного стандарту каламутності готували суспензію щільністю 10^3 кл/мл. При виборі даної концентрації мікроорганізмів враховували те, що вона є оптимальною для розрахунку колоній при

Залежність протигрибкової активності гелю клотримазолу від часу вивільнення

Час експозиції, хв	Кількість клітин			
	C.albicans		A.niger	
	дослід	контроль	дослід	контроль
0	101±8,2	107±12	97±5,4	100±7,2
20	89,2±3,7	104±10	83,6±4,6	102±9,5
40	64,5±4,1	105±14	68,9±3,9	103±11,7
60	45,7±5,3	103±12,2	54,3±4,7	104±10,2
120	22,4±4,2	108±8	46,2±5,8	106±11,8
180	10,8±3,4	110±11	34,5±6,2	108±10,3
240	3±1,3	115±7,5	21±2,7	116±4,6
300	2±1,0	115±10,7	18±2,1	115±10,7
360	2±0,8	120±9	11±1,6	117±8,6
420	1,6±0,6	118±11,4	8,2±1,5	120±5,9
480	2±0,9	116±10,2	6,2±1,2	107±11,4
540	1,0±0,2	108±14,6	5,4±1,1	112±9,6
600	0	105±16,3	4,2±0,8	111±9,8
660	0	114±8,2	1,3±0,1	120±12,8
720	0	118±10,8	0	124±17,3
780	0	116±13	0	125±11,8
840	0	118±14,7	0	128±12,5
900	0	115±18,3	0	125±16,9
960	0	122±9,7	0	127±11,5
1440	0	126±8,4	0	131±7,4

Таблиця 1

висіві культур. У ряд пробірок (на кожену культуру використовували 84 пробірки на дослід і 3 пробірки на контроль) вносили по 1,0 мл суспензії C.albicans та A.niger. Потім у кожену пробірку додавали по 0,1 г дослідного гелю. Як контроль використовували пробірки з суспензією культур без гелю. Вивільнення лікарських речовин визначали за допомогою ресуспендованих культур в ізотонічному розчині натрію хлориду, де зберігається їх життєдіяльність, але не забезпечуються процеси розмноження бактерій. Така стабільна культуральна завись давала можливість виявити початок виходу субстанцій з лікарських засобів по кількості колоній, що виростили, в динаміці. Засівали по 0,1 мл культури з 3-х паралельних пробірок на поживних агарах у чашках Петрі. Посіви інкубували при 37°C протягом 1440 хв (24 год). Потім розраховували середнє число колоній, які виростили в 3-х чашках, висіви проводили на момент внесення зразків ЛЗ у пробірки з культурами через 1200, 2400 і 3600 с, а потім протягом доби через кожні 3600 с.

Результати та їх обговорення

Залежність протигрибкової активності гелю з біфоназолом від часу вивільнення

Час експозиції, хв	Кількість клітин			
	C.albicans		A.niger	
	дослід	контроль	дослід	контроль
1	2	3	4	5
0	105±3,8	104±9,4	90±5,4	100±7,9
20	85,8±7,2	102±6,8	91,9±6,2	106±8,9
40	78,6±3,6	107±9,2	85,8±7,4	104±9,1
60	68,4±7,4	108±8,9	56,9±4,3	107±8,9
120	52,4±3,8	112±9,6	46,8±9,3	109±9,3
180	38,8±6,8	116±6,9	26,8±8,2	110±11,7
240	14,2±3,3	116±10,2	17±3,5	108±10,3
300	10,1±1,8	118±9,3	12±4,7	116±8,9
360	8,0±2,6	123±7,6	8,2±1,6	118±8,9
420	4,8±1,2	125±11,3	3,4±1,8	117±11,6
480	2,2±0,4	122±7,4	2,5±1,3	120±7,9

Таблиця 2

Отримані результати досліджень свідчать про те, що на протязі всього періоду експерименту в контрольних посівах спостерігається ріст культур мікроорганізмів у межах внесеної дози.

Результати вивчення протигрибкової активності гелю клотримазолу залежно від часу вивільнення представлені в табл. 1.

При визначенні антимікробної дії субстанції по відношенню до C.albicans через 40 хв відмічається зниження числа висіяних клітин, яке поступово збільшується до 60 хв досліді. Через 120 хв спостерігається різке зниження кількості життєздатних бактерій. При подальшому визначенні кількості мікроорганізмів встановлено, що, починаючи з 240 до 540 хв, висіваються тільки одиничні клітини мікроорганізмів. Це може пояснюватися наявністю в попу-

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5
540	1,7±0,3	121±8,3	1,9±3,2	123±8,4
600	1,5±0,4	124±11,8	0	125±9,8
660	0	126±12,3	0	123±8,4
720	0	124±9,2	0	128±10,2
780	0	129±6,9	0	126±8,9
840	0	128±11,3	0	129±6,7
900	0	121±10,1	0	128±11,4
960	0	132±3,9	0	131±12,5
1440	0	131±12,2	0	131±9,9

ляції *S.albicans* стійких до впливу клотримазолу мікроорганізмів. Починаючи з 600 хв вказані мікроорганізми не висівалися. Аналогічна за динамікою тенденція характерна і для суспензії *A.niger*. На початку дослідження висівалася дещо вища кількість мікроорганізмів. Різке зменшення кількості клітин спостерігалось через

240 хв експерименту, однак одиничні організми визначалися на протязі 660 хв.

Результати дослідження гелю з біфоназолом, наведені у табл. 2, свідчать про подібну динаміку вивільнення лікарської субстанції. По мірі вивільнення біфоназолу з гелевої основи спостерігається зниження кількості життєздатних мік-

роорганізмів популяції *S.albicans* та *A.niger*. Одиничні клітини мікроорганізмів висіваються, починаючи з 360 хв. Починаючи з 600 хв, для *A.niger* та 660 для *S.albicans* вказані мікроорганізми не висіваються.

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що вивільнення клотримазолу та біфоназолу з гелевої основи починається на 20 хв експерименту і продовжується протягом всього періоду дослідження — 1440 хв.

ВИСНОВКИ

1. Досліджена антимікробна активність гелів з клотримазолом та біфоназолом у залежності від часу вивільнення методом *in vitro*.

2. За результатами мікробіологічних досліджень встановлена динаміка вивільнення антимікотичних субстанцій із гелевої основи на тест-штамах *S.albicans* та *A.niger*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Широбоков В.П. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: Метод. рекомендації. — К., 2004. — 38 с.
2. Гриценко В.І., Грудько В.О., Рубан О.А. // *Вісник фармації*. — 2007. — №1 (49). — С. 24-27.
3. Давтян Л.Л. Науково-практичне обґрунтування технології м'яких лікарських форм для стоматології: Дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.01. — К., 2006. — 396 с.
4. Компендиум 2008 — Лекарственные препараты: Справ. / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: Морзон, 2008. — 2120 с.
5. Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи: Руков. для врачей. — 2-е изд. — С.Пб.: Питер, 2000. — 288 с.
6. Warner R.R. // *J. Am. Acad. Dermatol.* — 2001. — Vol. 45, №6. — P. 27-31
7. Wikler J.R., Nieboer C., Willemze R. // *J. Am. Acad. Dermatol.* — 2002. — Vol. 27, №1. — P. 37-39.

Адреса для листування: 61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-87-75.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 20.10.2009 р.