

УДК 615.451.3

¹С.Ж. Нургалиева, ¹С.Б. Ахметова*, ¹Е.Н. Котенева,
²Р.Б. Сейдахметова, ²Г.А. Атажанова, ¹Н.Г. Амантаев

¹Карагандинский государственный медицинский университет, г. Караганда, Казахстан

²Компания Фитохимия, АО Международный научно-производственный холдинг, г. Караганда, Казахстан

*e-mail: akhmetova_sb@mail.ru

Изучение антимикробной и ранозаживляющей активности эфирного масла полыни Сиверса

Целью данного исследования явилось изучение антимикробной и ранозаживляющей активности эфирного масла полыни Сиверса. Изучалась антимикробная активность эфирного масла полыни Сиверса, в результате исследований установлено, что эфирное масло *полыни* Сиверса обладает умеренно-выраженной антибактериальной активностью в отношении грамположительных штаммов (*St. aureus*, *Bac. subtilis*) и грамотрицательного штамма (*E. coli*) бактерий. Эфирное масло полыни Сиверса также оказало умеренно-выраженное антигрибковое действие в отношении *Candida albicans*. Изучена ранозаживляющая эффективность эфирного масла полыни Сиверса, на модели плоскостных кожных ран, средний срок заживления ран при использовании 5% мази эфирного масла полыни Сиверса составил 14,3±0,4 суток. В опытной группе динамика заживления не отличалась от таковой в контроле.

Ключевые слова: антимикробная активность, эфирное масло Сиверса, биологическая активность.

С.Ж. Нургалиева, С.Б. Ахметова, Е.Н. Котенева,
 Р.Б. Сейдахметова, Г.А. Атажанова, Н.Г. Амантаев
**Сиверс жусаның эфир майының микробқа қарсы және
 тез жазылып кету белсенділігін зерттеу**

Мақалада Сиверс жусаның эфир майының биологиялық ерекшеліктері көрсетілген. Сиверс жусаның эфир майының грамон микроорганизмдерге қатысты қалыпты-айқын бактерияға қарсы әрекеті бар екені анықталған, оның микробқа қарсы әрекетінің спекторына *Candida albicans* ашытқы саңырауқұлақшаға қатысты саңырауқұлаққа қарсы белсендігі де кіреді, сөйтіп аталған препараттың өзектілігі мен келешегі күмән туғызбайды және бұдан әрі зерттеуді талап етеді.

Түйін сөздер: биологиялық белсендігі, Сиверс жусаның эфир майы, микроорганизмдер.

S.Z. Nurgalieva, S.B. Akhmetova, E.N. Koteneva,
 R.B. Seydakhmetova, G.A. Atazhanova, N.G. Amantayev

The research of antimicrobial and wound healing activity of artemisia siversania essential oil

The article examines biological peculiarities of *Artemisia siversiana* essential oil. It was found that *Artemisia siversiana* essential oil has mild antibacterial effect on gram-positive microorganisms. The range of its antimicrobial effect includes antifungal effect on yeast fungus *Candida albicans*. It means that applicability and prospects of this preparation are beyond question and require further research.

Keywords: biological effect, *Artemisia sieversiana* essential oil, microorganisms.

Одним из перспективных средств для решения проблемы комплексного лечения воспалительного процесса могут быть биологически активные вещества растительного происхождения [1,2]. Наряду с другими биологически активными группами соединений, довольно прочно вошли в медицинскую

практику эфирные масла, обладающие широким спектром фармакологического действия [3].

Целью данного исследования явилось изучение антимикробной и ранозаживляющей активности эфирного масла полыни Сиверса (ЭМПС) полученного из *Artemisia sieversiana*.

Материалы и методы

Изучение антимикробной активности эфирного масла полыни Сиверса проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus agalacticae*, к грамотрицательному штамму *Escherichia coli* к дрожжевому грибку *Candida albicans* методом диффузии в агар (лунки) [3].

Исследования противовоспалительной эффективности эфирного масла полыни Сиверса проведены в двух сериях экспериментов на белых беспородных половозрелых крысах-самцах средней массой 250–300 г. Животных содержали в виварии на стандартных условиях. Исследования ранозаживляющей эффективности эфирного масла полыни Сиверса проведены на белых беспородных половозрелых крысах-самцах средней массой 200–250 г. Животных содержали в виварии на стандартных условиях. Для оценки влияния эфирного масла полыни Сиверса на процессы заживления ран использовали модель плоскостных кожных ран.

Результаты и их обсуждение

В результате исследований установлено, что эфирное масло *полыни* Сиверса обладает умеренно-выраженной антибактериальной активностью в отношении грамположительных штаммов (*St. aureus*, *Bac. subtilis*) и грамотрицательного штамма (*E. coli*) бактерий. Эфирное масло полыни Сиверса также оказало умеренно-выраженное антигрибковое действие в отношении *Candida albicans*.

На следующем этапе исследований проведено изучение ранозаживляющих свойств мазевой

формы 5% эфирного масла полыни Сиверса на модели плоскостных кожных ран.

Животные были распределены на следующие группы: контрольная группа, в которой лечение осуществляли полиэтиленоксидной основой – 10 крыс, группа сравнения, в которой лечение осуществляли мазью Левомеколь – 10 крыс, группа сравнения, в которой лечение осуществляли мазью Солкосерил – 10 крыс, опытная группа, где применяли для лечения 5% мазь эфирного масла полыни Сиверса на полиэтиленоксидной основе – 10 крыс. В ходе эксперимента оценивали общее состояние животных, степень выраженности воспалительной реакции и эпителизации раны. При изучении ранозаживляющих свойств ни в одной группе не было отмечено нарушения интегральных показателей: общего состояния и поведения животных, приема пищи, экскреции. У животных, леченых полиэтиленгликолевой основой, время полного затягивания ран составило $15,3 \pm 0,5$ суток. Средний срок заживления ран при использовании 5% мази эфирного масла полыни Сиверса составил $14,3 \pm 0,4$ суток. Средние сроки заживления ран при использовании мазей Левомеколь и Солкосерил составили $13,7 \pm 0,2$ и $14,3 \pm 0,5$ суток, соответственно. В опытной группе динамика заживления не отличалась от таковой в контроле.

Таким образом, эфирное масло полыни Сиверса обладает умеренно-выраженным антибактериальным действием в отношении грамположительных микроорганизмов, в спектр его антимикробного действия входит и антигрибковая активность в отношении дрожжевого грибка *Candida albicans*, следовательно актуальность и перспективность данного препарата не вызывает сомнения и требуется дальнейшее изучение.

Литература

- 1 Николаевский Н.Д., Еременко А.Е., Иванов И.К. Биологическая активность эфирных масел. – Москва, 1987. – 144 с.
- 2 Навашин, С.М. Рациональная антибиотикотерапия / С.М. Навашин, И.П. Фомина // Справочник. – М.: Медицина. – 1982. – 496 с.
- 3 Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В.П. Фисенко [и др.] – Москва, 2000. – 398 с.

УДК 615.014.674; 615.038

¹Ш.М. Нурмолдин*, ²Ш.А. Егизбаева, ³Б.У. Шалекенов, ¹М.К. Гильманов

¹НИИ проблем биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан,

²Казахский Национальный Медицинский Университет, г. Алматы, Казахстан,

³Алматинский государственный институт усовершенствования врачей, г. Алматы, Казахстан,

*e-mail: shalkar.bt@yandex.ru

Изучение свойств нового трансдермального микрокапсулярного лекарственного препарата нагруженного левофлоксацином для лечения урогенитальных инфекций

Урогенитальные инфекции очень сильно распространены среди населения земли. Эти инфекции сильно ухудшают качество жизни, а многие из них трудноизлечимы. Лечение этих инфекций требует очень длительного времени и не всегда результативно. Поэтому для прогресса в терапии урогенитальных инфекций необходимо создание новых лекарств, с помощью методов нанотехнологии. целью настоящего исследования явилось Изучение свойств нового трансдермального микрокапсулярного лекарственного препарата нагруженного левофлоксацином для лечения урогенитальных инфекций. Были изучены свойства микрокапсул нагруженных левофлоксацином для лечения урогенитальных инфекций, таких как цистит и простатит.

Ключевые слова: микрокапсулы, левофлоксацин, урогенитальные инфекции, изоэлектрическая точка, цистит, простатит.

Ш.М. Нурмолдин, Ш.А. Егизбаева, Б.У. Шалекенов, М.К. Гильманов

Урогенитальды инфекцияларды емдеуге арналған жаңа трансдермалды левофлоксацинмен жүктелген микрокапсулярлы емдік препараттың қасиеттерін зерттеу

Левофлоксацинмен жүктелген микрокапсулалар зерттелді. Трансфокалды микроскопия арқылы олардың нативті құрылымы анықталды. Микрокапсулалар диаметрі 1 мкм болатын шар тәрізді денешіктер болатыны анықталды. Капиллярлы электрофорез арқылы микрокапсулалардың изоэлектрлік нүктесі 4,7ге тең болатыны анықталды және изоэлектрлік нүктеде микрокапсулалардың заряды ауысатыны көрсетілді. Микрокапсулалардың ең төзімді көрсеткіші рН=7,7-8,5 арасында байқалады, осы рН көрсеткішінде бөлме температурасында стерильді жағдайлардың сақталған шартында олар бір жыл бойы өзінің терапевтік көрсеткішін жоғалтпайды. Микрокапсулаларды трансдермальды нанокрем ретінде цистит пен простатит терапиясында қолдануы дәстүрлі терапияға қарағанда әлқайда жақсы нәтижелер көрсетті.

Түйін сөздер: микрокапсулалар, левофлоксацин, урогенитальды инфекциялар, изоэлектрлік нүкте, цистит, простатит.

Sh.M. Nurmoldin, Sh.A. Egizbaeva, B.U. Shalekenov, M.K. Gilmanov

The study of the properties of the new transdermal microcapsules loaded by levofloxacin for the treatment of urogenital infections

It was studied the properties of the microcapsules loaded by levofloxacin. It was carried out the native structure of this microcapsules by transfocal microscopy. The microcapsules are spherical bodies more than 1,3 μm . It was established by capillary electrophoresis that the microcapsules have an isoelectric point equal 4.7 units of pH and this point microcapsules change of their charge. Microcapsules are most stable at pH 7.7 – 8.5, and under these pH values they can be stored for over one year at room temperature in sterile conditions without loss of therapeutic properties. Use of microcapsules as a transdermal nanocream showed successful therapy for the treatment of cystitis and prostatitis.

Keywords: microcapsules, levofloxacin, urogenital infections, bioelectrical point, cystitis, prostatitis.

Урогенитальные инфекции очень сильно распространены среди населения земли. Эти инфекции сильно ухудшают качество жизни, а многие из них трудноизлечимы. Эффективность лекарственных средств, применяемых для лечения этих инфекций низка [1-3]. Применяемые лекарства очень токсичны и дают различные осложнения. Так как все эти лекарства применяются в виде таблеток или инъекций, то поэтому они действуют не только на мочеполовую систему, но, к сожалению, они действуют на все клетки организма, что чревато возникновению различных патологий. Эту тяжелую ситуацию может изменить только применение методов нанотехнологии. Нано- и микроносители могут доставить нужное лекарство прямо в больной орган без участия кровеносной и пищеварительной систем. Все это позволит в сотни раз снизить дозу применяемых лекарств, следовательно, во столько же раз снизить токсичность и до минимума снизить число патологий различных органов при терапии урогенитальных инфекций. Исходя из вышеуказанного, целью настоящей работы явилось изучение свойств нового трансдермального микрокапсулярного лекарственного препарата нагруженного левофлоксацином для лечения урогенитальных инфекций.

Материалы и методы

Объектом исследования служили трансдермальные микрокапсулы, загруженные левофлоксацином. Его получали по методу, разработанному Гильмановым М.К. с сотрудниками (№17044)[4]. Загрузку микрокапсул левофлоксацином проводили по методу Саменова Н.А. с соавторами (№17043) [5]. При изучении свойств нагруженных левофлоксацином микрокапсул мы использовали следующие методы: спектрофотометрию на спектрофотометре типа *Ultra-spect 1100* фирмы *Bioscience* (Великобритания), трансфокальную микроскопию на трансфокальном микроскопе типа *DM 6000* фирмы «*Leico*» (Швейцария), определение изоэлектрической точки микрокапсул, нагруженных левофлоксацином, для определения зависимости электрофоретического поведения от pH проводили с помощью капиллярного электрофеза на приборе *ISCO Capillary Electropherograph (Lincoln, NE)* с УФ детектором *UV-vis* (ЛКВ, Швеция).

Все результаты были подвергнуты стандартной статистической обработке. Использованные

в работе приборы отвечают требованиям современной метрологии.

Результаты и их обсуждение

Микрокапсулы получали по методу, разработанному Гильмановым М.К. с соавторами (№17044). Стал вопрос каким антибиотиком необходимо нагрузить микрокапсулы. Среди всех применяемых в урологии антибиотиков наиболее применимым для лечения урогенитальных инфекций является левофлоксацин, который также выпускается под следующими фирменными названиями: таваник, левофлоксацин (IUPAC: (-)-(S)-9-Фтор-2,3-дигидро-3-метил-10-(4-метил-1-пиперазинил)-7-оксо-7Н-пиридо[1,2,3-de]1,4-бензоксазин-6-карбоновая кислота гемигидрат). Левофлоксацин — лекарственное средство, антибактериальный препарат, входящий в группу фторхинолонов. Представляет собой L-энантиомер офлоксацина с антибактериальной активностью вдвое большей, чем у офлоксацина, являющегося рацемической смесью L- и R-энантиомеров [6]. Фторхинолон, противомикробное бактерицидное средство широкого спектра действия. Блокирует бактериальную ДНК-гиразу (топоизомеразу II) и топоизомеразу IV, нарушает суперспирализацию и сшивку разрывов ДНК, подавляет синтез ДНК, вызывает глубокие морфологические изменения в цитоплазме, клеточной стенке и мембранах [7]. Эффективен против большинства болезнетворных бактерий [8]. Загрузку микрокапсул левофлоксацином проводили по методу Саменова Н.А. с соавторами (№17043). Были изучены свойства нагруженного микрокапсулярного лекарственного препарата. До настоящего времени изучение нанообъектов осуществлялось в основном с помощью электронной микроскопии, однако ввиду того, что применяемые в этом методе электронные пучки имеют большую энергию, то биологические объекты, состоящие в основном из атомов С, Н, и N не выдерживают этого пучка и сгорают [9]. Поэтому эти объекты покрываются слоями тугоплавких драгоценных металлов, таких как золото или осмий, что естественно нарушает нативную структуру нано и микрообъектов. Для изучения таких объектов впервые был разработан метод трансфокальной микроскопии. В отличие от электронной микроскопии трансфокальная микроскопия позволяет наблюдать нативную структуру микрообъектов.

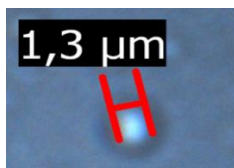


Рисунок 1 – Трансфокальная микроскопия загрузенных микрокапсул

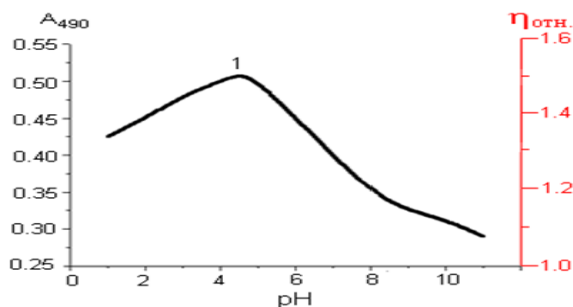


Рисунок 2 – Определение изоэлектрической точки микрокапсул

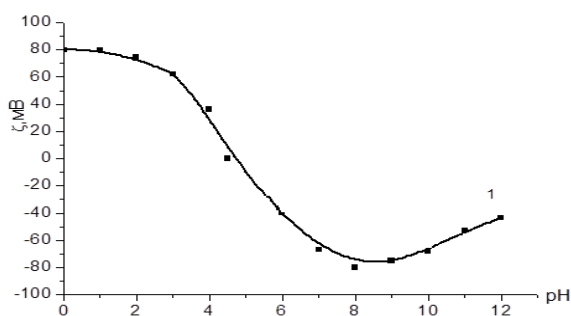


Рисунок 3 – Изменение заряда микрокапсул в зависимости pH

Для изучения загрузенного микрокапсулярного препарата использовали трансфокальный микроскоп типа DM 6000 фирмы «Leico» (Швейцария). Результаты исследования представлены на рисунке 1.

На рисунке 1 представлена нативная структура загрузенных микрокапсул. Как видно из рисунка, микрокапсулы представляют собой структуру правильной сферической формы, размером чуть более одного мкм. Изучаемые микрокапсулы имеют в своем составе отрицательно заряженный фосфатидилинозитол и отрицательно заряженные молекулы глутаматдегидрогеназы (ГДГ). Таким образом, поверхность микрокапсул имеет отрицательный заряд. Характеристикой заряда систем является изоэлектрическая точка, что говорит о необходимости изучения этой характеристики микрокапсул. Известно, что в изоэлектрической точке микрообъ-

ект имеет самую слабую растворимость и при изоэлектрической точке микрообъекты начинают сливаться и выпадают в осадок. Поэтому для изучения изоэлектрической точки использовался метод прямой спектрофотометрии при длине волны 490 нм. При приближении к изоэлектрической точке поглощение резко возрастает в результате слипания микрообъектов. В работе применялся спектрофотометр типа Ultraspec 1100 фирмы Bioscience (Великобритания). Как видно из рисунка 2, наблюдается повышение оптической плотности при pH=4,7, что говорит о том, что микрокапсулы имеют изоэлектрическую точку равную pH=4,7. Это является полным подтверждением того, что микрокапсулы имеют отрицательный заряд. Удаление от этой точки свидетельствует об ионизации кислотных и аминных групп, что увеличивает стабильность микрокапсул.

Одной из важнейших характеристик микроструктур является их заряд и их поведение в зависимости от рН. Необходимо было изучить степени заряженности микрокапсул в зависимости от рН, так как это определяет устойчивость микроструктур в водном растворе. С этой целью нами был проведен опыт по определению заряда микрокапсул в зависимости от рН с помощью капиллярного электрофореза ISCO Capillary Electropherograph (Lincoln, NE) с УФ детектором UV-vis (LKB, Швеция). рН водного раствора микрокапсул меняли с помощью 0,001М NaOH и 0,001М HCl. Для каждого опыта использовали новые капилляры, которые предварительно промывались спиртом и деионизированной водой в течение суток. Электрофоретическую подвижность микрокапсул определяли путем измерения времени пробега от момента подачи напряжения (120В) и до момента регистрации на УФ детекторе при длине волны 280 нм. Результаты показаны на рисунке 3.

Как показывают результаты электрофореза, поверхность микрокапсул имеет отрицательный заряд. Микрокапсулы обнаруживают рН-зависимость – с потерей заряда в изоэлектрической точке 4,7 со следующей перезарядкой ниже этой. Чем выше рН от изоэлектрической точки, тем больше заряд у микрокапсул. Исходя из это-

го очень важного результата мы делаем следующие выводы, что микрокапсулы лучше всего следует сохранять при рН выше 7,7 до 8,5, так как значения выше 8,5 не физиологичны. При этих показателях рН микрокапсулы наиболее стабильны и устойчивы в водных растворах. А при рН близким к 5 микрокапсулы будут слипаться и выпадают в осадок, что не позволит применять их в терапии. Наши опыты показали, что микрокапсулы стабильны при хранении при рН=7,7. При комнатной температуре в стерильных условиях они полностью сохраняют свои терапевтические свойства. На основе раствора нагруженных левофлоксацином микрокапсул и геля алоэ, добавленного в равной пропорции был изготовлен нанокрем. Этот нанокрем использовали для лечения больных циститом (15 пациентов) и простатитом (20 пациентов). Для лечения больных нанокрем наносится тонким слоем на кожу в области больного органа два раза в день – утром и вечером. Результаты исследования показали, что пациенты успешно были излечены в два-три раза быстрее, чем при традиционной терапии таблетками и инъекциями. И количество использованного левофлоксацина уменьшилось в 500 раз, никаких осложнений не было обнаружено.

Литература

- 1 Stamm W.E., Norrby S.R. Urinary tract infections: disease panorama and challenges // *J Infect Dis.* – 2001. – 183 – P. 1–4.
- 2 Kunin C.M. Urinary tract infections in females // *Clin Infect Dis* – 1994. – 18. P. 1–10.
- 3 Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic costs // *Am J Med.* – 2002. – 113. – P. 5–13.
- 4 Гильманов М.К., Гильманова С.М., Гильманов С.М. Нанокapsулы «Universaldeliverycarrier» – транспортная единица для доставки терапевтических агентов, генетических молекул и биологически активных веществ // Предварительный патент РК №17044 от 16.01.2006 // Заявка № 2004/1192.1 от 17 августа 2004.
- 5 Саменов Н.А., Гильманов М.К., Гильманова С.М. Способ загрузки липосом // Предварительный патент РК №17043 от 16.01.2006. Заявка №2004/1191.1 РК. – 17.08.2004.
- 6 Morrissey I., Hoshino K., et al. Mechanism of differential activities of ofloxacin enantiomers // *Antimicrob Agents Chemother.* – 1996 August. – 40(8). – P. 1775–1784.
- 7 Levofloxacin (Tavanic) and therapy of urogenital infections // *AntibioKhimioter.* – 2004. – 49(6). – P. 30-39.
- 8 Effectiveness of levofloxacin (Tavanic, “Aventis Pharma”) in the treatment of complicated infections of the urogenital organs // *Urologiia.* – 2003. – (1):31. – P. 4.
- 9 Шиммель Г. Методика электронной микроскопии. – М., 1972. – С. 120-122.