

О.М. Важнича, Г.А. Лобань, Н.О. Боброва, О.В. Ганчо
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

МЕТИЛЕТИЛПІРИДИНОЛУ СУКЦИНАТ ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ АД'ЮВАНТ ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ

e-mail: o_gancho@ukr.net

Стаття присвячена вивченню дії метилетилпіридинолу сукцинату (мексидолу) та його комбінацій з антибіотиками на розвиток культур еталонних штамів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 стандартними методами серійних розведень та диско-дифузійним. Показано, що препарат має пригнічувальну дію на вказані штами стафілококу та кишкової палички, що свідчить про наявність у нього антимікробних властивостей та їх широкий спектр за мінімальної інгібуючої концентрації 1250 мкг/мл. Він здатний підсилювати чутливість мікроорганізмів до антибіотиків різного механізму дії, а саме *E. coli* ATCC 25922 – до цефтазидиму та доксацикліну, *S. aureus* ATCC 25923 – до цефтазидиму, ванкоміцину, фузидину, норфлоксацину. Це дає підстави вважати, що метилетилпіридинолу сукцинат доцільно застосовувати як ад'ювант протимікробної терапії. Вочевидь, потенціювання ефекту антибіотиків разом з антиоксидантною, антигоскочною та протизапальною дією препарату на організм хворого сприятиме підвищенню ефективності терапії гнійно-інфекційних захворювань.

Ключові слова: метилетилпіридинолу сукцинат, мексидол, антимікробна дія, еталонні штами мікроорганізмів.

Робота є фрагментом НДР «Пошук засобів та біологічно активних речовин з числа похідних 2-оксоіндолу та 3-оксипіридину для фармакокорекції адаптивних процесів при порушеннях гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0111U004879).

Питання ефективного пригнічення мікробного росту є актуальним для сучасної медицини як з огляду на поширення резистентних мікроорганізмів [11, 14], так і внаслідок появи значної кількості хворих з пригніченням імунітету, у яких патогенами стають коменсали – представники нормальної мікрофлори людського організму [13, 15, 16]. Посилення дієвості протимікробної терапії досягають шляхом створення нових представників відомих класів антибіотиків; розробки нових груп хімотерапевтиків, орієнтованих на механізми, які раніше не слугували мішенями для антимікробної дії, впровадження комбінованих препаратів [10, 14, 17] та продуктів нанотехнології [12, 6]. З точки зору пошуку «нетрадиційних» засобів протимікробної терапії заслуговує на увагу метилетилпіридинолу сукцинат (мексидол), який широко відомий як антиоксидант з нейротропними властивостями [3], але водночас у клініці поліпшує результати лікування гнійних ран, перитоніту, панкреатиту [2, 5, 7].

Метою роботи було вивчити протимікробну дію метилетилпіридинолу сукцинату (мексидолу) та його комбінацій з антибіотиками на еталонні штами мікроорганізмів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923.

Матеріал та методи дослідження. Визначення протимікробної активності метилетилпіридинолу сукцинату проводили за методом серійних розведень та диско-дифузійним методом [9]. Використовували еталонні штами мікроорганізмів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923, одержані з ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського» НАМН України (Київ), чутливість яких до антибіотиків була перевірена і відповідає референтним значенням [9]. Для визначення чутливості мікроорганізмів до метилетилпіридинолу сукцинату диско-дифузійним методом на порожні стерильні паперові диски (Munktell, Швеція) наносили 20% розчин субстанції препарату (Біон, РФ) до кількості 1000 мкг/диск, висушували при кімнатній температурі і використовували як описано [9].

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) метилетилпіридинолу сукцинату проводили за стандартним методом серійних розведень [9]. Основний розчин субстанції препарату на воді для ін'єкцій мав концентрацію 20000 мкг/мл. Тест-культури стафілококу та кишкової палички містили 10^6 бактерій/мл. Облік результатів здійснювали візуально за накопиченням бактерійної маси після 24-годинної інкубації при +37 °С. Для знаходження мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) описане визначення МІК доповнювали другим етапом, на якому з пробірок, де немає ознак росту, робили висів на сектори агару в чашках Петрі і відмічали найменшу концентрацію, посів з якої не дав росту. Визначення МІК та МБК повторювали тричі за повного співпадання одержаних результатів.

Визначаючи комбіновану дію відомих протимікробних засобів і метилетилпіридинолу сукцинату на еталонні штами мікроорганізмів, використовували стандартні паперові диски з антибіотиками (Система Оптимум, Україна), які добирали з урахуванням їх спектру дії. На вказані

диски за асептичних умов додатково наносили розчин субстанції метилетилпіридинолу сукцинату (1000 мкг/диск). Диски висушували й використовували для визначення чутливості еталонних штамів мікроорганізмів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 диско-дифузійним методом. Зони пригнічення бактерійного росту виміряли через 24 год і порівнювали з такими навколо стандартних дисків без метилетилпіридинолу сукцинату. Визначення чутливості мікроорганізмів до комбінацій цього препарату з антибіотиками повторювали 5 разів з наступною статистичною обробкою за стандартними комп'ютерними програмами Statistica for Windows 8.0. Вірогідність різниці між групами оцінювали за критерієм t Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Показано, що навколо дисків з метилетилпіридинолу сукцинатом на твердому живильному середовищі формуються зони пригнічення росту мікроорганізмів діаметром 23,4-26,4 мм. Для тест-культури *E. coli* ATCC 25922 діаметр зони пригнічення росту мікроорганізмів становив $26,4 \pm 2,8$ мм (n=5), для тест-культури *S. aureus* ATCC 25923 – $23,4 \pm 1,1$ мм (n=5). Результати визначення МІК наведені в табл. 1 і показують відсутність видимого росту тест-культур у розведеннях 1:1–1:8, тобто МІК метилетилпіридинолу сукцинату дорівнює 1250 мкг/мл як для *E. coli* ATCC 25922, так і для *S. aureus* ATCC 25923. Результати визначення МБК (див. табл. 1) свідчать, що при застосуванні досліджуваного засобу повна стерильність середовища досягається у розведеннях 1:1–1:2 для *E. coli* та 1:1–1:4 для *S. aureus*. Це означає, що МБК метилетилпіридинолу сукцинату дорівнює 5000 мкг/мл у культурі *E. coli* ATCC 25922 та 2500 мкг/мл у культурі *S. aureus* ATCC 25923.

Таблиця 1

Мінімальна інгібуюча та бактерицидна концентрація метилетилпіридинолу сукцинату в культурах еталонних штамів мікроорганізмів

Тест-культура		Концентрація препарату, мкг/мл								
		10000	5000	2500	1250	625	312	156	78	Контроль
<i>E. coli</i> ATCC 25922	МІК	–	–	–	–	+	+	+	+	+
	МБК	–	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	МІК	–	–	–	–	+	+	+	+	+
	МБК	–	–	–	+	+	+	+	+	+

Примітки: 1. «–» – відсутність росту мікроорганізмів; 2. «+» – звичайний ріст мікроорганізмів;

Результати комбінування метилетилпіридинолу сукцинату з антибактеріальними засобами наведені в табл. 2. У середньому зони пригнічення росту *E. coli* ATCC 25922 антибіотиками були в межах від 16,0мм до 26,6 мм. Комбінування цих засобів і метилетилпіридинолу сукцинату характеризувалась збільшенням зон інгібування росту тест-культури кишкової палички у порівнянні з ефектом самого антибіотика, що було вірогідним стосовно комбінацій цефтазидиму (p=0,0094), доксацикліну (p=0,0462) або мало характер тенденції для комбінацій тетрацикліну (p=0,0594) та норфлораксацину (p=0,0569). Зони пригнічення росту *S. aureus* ATCC 25923 антибіотиками становили від 17 мм до 27,2 мм (див. табл. 2). Комбінована дія цих засобів і метилетилпіридинолу сукцинату стосовно тест-культури *S. aureus* ATCC 25923 супроводжувалась збільшенням зон інгібування росту бактерій у порівнянні із аналогічними зонами навколо стандартних дисків. Таке явище мало місце при комбінуванні досліджуваного препарату з ванкомицином (p=0,0008), цефтазидимом (p=0,0069), фузидином (p=0,0475), норфлораксацином (p=0,0369). Тенденція до збільшення зон пригнічення бактерійного росту спостерігалась у комбінацій з ампіциліном (p=0,0890), оксациліном (p=0,0657) і тетрацикліном (p=0,0594). Отже, комбінування метилетилпіридинолу сукцинату з антибіотиками різних груп, уключаючи інгібітори синтезу клітинної стінки (цефалоспориноли, монобактами), інгібітори синтезу білка (тетрацикліни, стероїди) та інгібітори ДНК-гірази (фторхінололи), посилює антимікробну дію останніх проти еталонних штамів грамнегативних паличок та грампозитивних коків. Наявність власної протимікробної дії метилетилпіридинолу сукцинату узгоджуються з даними авторів, які спостерігали антимікробний ефект близького засобу метилетилпіридинолу гідрохлориду (емоксипіну) стосовно штаму *E. coli* ATCC 25922 [1, 8], а також з результатами вивчення антибактеріальної дії досліджуваного препарату на розвиток тест-культур окремих умовно-патогенних мікроорганізмів [4]. Це дає підстави вважати, що протимікробні властивості похідних 3-гідроксипіридину пов'язані зі структурою метилетилпіридинолу. Здатність досліджуваного препарату пригнічувати розвиток як грампозитивних коків, так і грамнегативних паличок, вочевидь, може свідчити про широкий спектр його протимікробної дії. Чутливість еталонних штамів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 до метилетилпіридинолу сукцинату з огляду на визначені МІК та МБК невисока, тому слід припустити, що більше практичне значення має здатність препарату посилювати ефект антибіотиків, яка може бути зумовлена мембранотропним

механізмом та впливом на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в бактеріальній клітині, як взагалі властиво цьому лікарському засобу [3].

Таблиця 2

Вплив комбінацій метилетилпіридинолу сукцинату з антибіотиками на розвиток еталонних штамів мікроорганізмів на твердому середовищі (M±m)

Стандартні диски	Метилетил-піридинолу сукцинат (1000 мкг/диск)	Зони інгібування росту, мм	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922 (n=5)	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (n=5)
Ампіцилін (10 мкг)	–	16,0±1,9	27,2±3,3
	+	20,4±2,2	34,7±1,8
Оксацилін (10 мкг)	–	не визначали	18,0±2,9
	+	не визначали	25,4±1,6
Ванкоміцин (30 мкг)	–	не визначали	17,0±1,2
	+	не визначали	27,2±1,6*
Цефтазидим (30 мкг)	–	20,2±2,5	18,1±2,1
	+	28,2±1,3*	27,2±1,9*
Тетрациклін (30 мкг)	–	19,0±3,4	24,5±2,5
	+	27,0±2,6	31,2±1,5
Доксициклін (10 мкг)	–	19,0±2,4	не визначали
	+	29,6±3,2*	не визначали
Фузидин (300 мкг)	–	не визначали	20,6±2,3
	+	не визначали	28,9±1,8*
Норфлуксацин (10 мкг)	–	26,6±2,3	24,0±1,5
	+	31,8±1,4	29,0±1,8*

Примітки: 1. У дужках – кількість речовини на стандартному диску. 2. $p < 0,05$ у порівнянні з зоною інгібування росту тест-культури для того ж антибіотика без метилетилпіридинолу сукцинату (–).

Синергізм з антибіотиками в експериментах *in vitro* дозволяє припустити, що доцільно застосовувати метилетилпіридинолу сукцинат як ад'ювант протимікробної терапії. Вочевидь, у цьому випадку потенціювання ефекту антибіотиків разом з антиоксидантною, антитоксичною та протизапальною дією препарату на організм хворого [4] сприятиме підвищенню ефективності терапії гнійно-інфекційних захворювань.

Висновки

1. Метилетилпіридинолу сукцинат (мексидол) виявляє антимікробну дію стосовно еталонних штамів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 з МІК 1250 мкг/мл та МБК 2500-5000 мкг/мл.
2. Комбінування метилетилпіридинолу сукцинату (1000 мкг/диск) з антибіотиками підвищує чутливість еталонних штамів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 до протимікробних засобів, що підтверджується вірогідним збільшенням зон пригнічення росту мікроорганізмів на твердому середовищі.

Список літератури

1. Bobrova NO, Vazhnycha OM. Antymikrobnі vlastyvoствi metyletylpyrydynolu yak skladova yoho farmakodynamiky. Farmakologiya ta likarska toksykologiya. 2016 Trav;2 (48):37-42. [in Ukrainian]
2. Vasylyev YT, Mumladze RB, Kolesova OE, Yakushyn VY. Klynnycheskaya efektyvnost meksidola pry lecheniyi ostrykh khirurgicheskikh zabolevaniyakh. Rossiyskaya meditsinskaya akademiya poslediplomnogo obrazovaniya [Internet]. 2003 [Tsitirovano 2018 Fevr 11]. Dostupno: <http://infomedik.info/med/a070186.htm> [in Russian]
3. Dronov SN. Farmakologiya meksidola i yego primeneniye v psikhonevrologicheskoy praktike. Visnyk VDNZU «Ukrayinska medychna stomatolohichna akademiya». Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny. 2015;3(51)ch1:328-335. [in Russian]
4. Kolesova OYe; Ukhanova TYu, izobretateli; Rossiyskaya meditsinskaya akademiya poslediplomnogo obrazovaniya, patentoobladatel. Antibakterialnoye sredstvo. Patent RF №2157686. 2000 Okt 20. [in Russian]
5. Lihonenko OV, Chorna IO, Dihtyar II, Kravtsiv MI, Storozhenko OV. Vykorystannya kombinovanoyi metabolitotropnoyi terapiyi v kompleksi likuvannya hniynykh ran myakykh tkanyn. Klinichna khirurhiya. 2009 Lyst;11-12:51. [in Ukrainian]
6. Lyakhovskiy VI, Loban HA, Hanchu OV, Vazhnycha OM, Kolomiyets SV, Dzhaber VKhO. Dynamika bakteriologichnykh ta planimetrychnykh pokaznykiv rany pid diyeyu nanochastynok sribla, stabilizovanykh meksydolom ta polivinilpirolidonom. Klinichna khirurhiya. 2016 Kvit;4(885):67-9. [in Ukrainian]
7. Malygina NV. Meksidol v kompleksnom lechenii ostrogo pankreatita. Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova. 2006;10:42-50. [in Russian]
8. Miroshnichenko AG, Bryukhanov VM, Butakova LYU, Gossen IYe, Perfilyev VYu, Smirnov PV. Vliyanie antioksidantov na razvitiye chistoy kultury Escherichia coli i yeye chuvstvitelnost k gentamitsinu. Fundamentalnyie issledovaniya. 2013 May;5(chast' 2):339-43. [in Russian]
9. Semina SA, Sidorenko SV, Rezvan SP, Grudinina SA, Strachunskiy LS, Stetsyuk OU, i dr. Opredeleniye chuvstvitelnosti mikroorganizmiv k antibakterialnym preparatam (Metodicheskiye ukazaniya MUK 4.2.1890-04). Klin mikrobiol antimikrob khimioter. 2004;6(4):306-59. [in Russian]
10. Gould IM, Bal AM. New antibiotic agents in the pipeline and how they can overcome microbial resistance. Virulence. 2013 Feb 15;4(2):185-91.

11. Michael CA, Dominey-Howes D, Labbate M. The antibiotic resistance crisis: causes, consequences, and management. Front Public Health. [Internet] 2014 Sep 16 [cited 2018 Feb. 11];2:145. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4165128/>
12. Muzammil S, Hayat S, Fakhar-E-Alam M, Aslam B, Siddique MH, Nisar MA, et al. Nanoantibiotics: Future nanotechnologies to combat antibiotic resistance. Front Biosci (Elite Ed). 2018 Mar 1;10:352-74.
13. Rolston KVI. Infections in Cancer Patients with Solid Tumors: A Review. Infect Dis Ther. 2017 Mar; 6(1):69-83.
14. Rossolini GM, Arena F, Pecile P, Pollini S. Update on the antibiotic resistance crisis. Clin Opin Pharmacol. 2014 Oct;18:56-60.
15. Sandhu A, Samra AK. Opportunistic infections and disease implications in HIV/AIDS. IJPSI. 2013 May;2(5):47-54.
16. Steele RW. Managing infection in cancer patients and other immunocompromised children. Ochsner J. 2012 Fall;12(3):202-10.
17. Wright GD. Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. Can J Microbiol. 2014 Mar;60(3):147-54.

Реферати

МЕТИЛЭТИЛПИРИДИНОЛА СУКЦИНАТ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ АДЬЮВАНТ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СРЕДСТВ

Важничая Е.М., Лобань Г.А., Боброва Н.А.,
Ганчо О.В.

Статья посвящена изучению действия метилэтилпиридинола сукцината (мексидола) и его комбинаций с антибиотиками на развитие культур эталонных штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 25923 стандартными методами серийных разведений и диско-диффузионным. Показано, что препарат имеет угнетающее действие на указанные штаммы стафилококка и кишечной палочки, что свидетельствует о наличии у него антимикробных свойств и их широкий спектр с минимальной подавляющей концентрацией 1250 мкг/мл. Он способен усиливать чувствительность микроорганизмов к антибиотикам различного механизма действия, а именно *E. coli* ATCC 25922 – к цефтазидиму и доксациклину, *S. aureus* ATCC 25923 – к цефтазидиму, ванкомицину, фузидину, норфлоксацину. Это дает основания полагать, что метилэтилпиридинола сукцинат целесообразно применять как адьювант противомикробной терапии. Очевидно, потенцирование эффекта антибиотиков вместе с антиоксидантным, антиоксидическим и противовоспалительным действием препарата на организм больного будет способствовать повышению эффективности терапии гнойно-инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: метилэтилпиридинола сукцинат, мексидол, антимикробное действие, эталонные штаммы микроорганизмов.

Статья надійшла 4.03.18 р.

METHYLETHYLPYRIDINOL SUCCINATE AS A POTENTIAL ADJUVANT OF ANTIMICROBIAL AGENTS

Vazhnycha E.M., Loban G.A., Bobrova N.A., Gancho O.V.

The paper is devoted to study of the action of methylethylpyridinol succinate (mexidol) and its combinations with antibiotics on the development of cultures of standard strains of *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 by standard methods of serial broth dilutions and disco-diffusion. It is shown that the drug has an inhibitory effect on these strains of staphylococcus and *Escherichia coli* which indicates that it has antimicrobial properties and broad spectrum with a minimal inhibitory concentration of 1250 µg/ml. It is also capable of enhancing microorganisms' susceptibility to antibiotics of different mechanisms of action, namely *E. coli* ATCC 25922 – to ceftazidime and doxycycline, *S. aureus* ATCC 25923 – to ceftazidime, vancomycin, fusidine, norfloxacin. This gives reason to believe that methylethylpyridinol succinate is expediently used as an adjuvant of antimicrobial therapy. Obviously, the potentiation of antibiotics effect along with the antioxidant, antitoxic and anti-inflammatory action of the drug on the patient's body will help to increase the effectiveness of therapy for purulent-infectious diseases.

Key words: methylethylpyridinol succinate, mexidol, antimicrobial action, reference strains of microorganisms.

Рецензент Дев'яткіна Т.О.

DOI 10.26724 / 2079-8334-2018-2-64-126-131
UDC 616.716.1:616.315.1: 616.216-002-074/.078

¹S. D. Varzhapetyan, ²A.G. Gulyuk
¹SI "Zaporizhzhya Medical Academy of Post-Graduate Education Ministry of Health of Ukraine"
²Odesa National Medical University

THE STUDY OF HISTOTOPOGRAPHY OF GLYCOCONJUGATES IN THE PERSPECTIVE OF THE DEVELOPMENT OF LOCAL THERAPY OF STOMATOLOGICAL MAXILLARY SINUSITIS

E-mail: sw050773@gmail.com

Lectin can act as address agents, or vectors. The distribution of carbohydrate residues with high concentration in the regions of the mucous membrane of the maxillary sinus of 129 (100.0 %) patients, which were distributed according to etiopathogenetic groups of stomatogenic maxillary sinusitis. The study showed that the saturation of N-acetylneuraminic acid dominates only in the basal cells of the Schneider membrane in the case of an odontogenic maxillary sinusitis. Sialyl(α2-6) galactose had high expression with traumatic form of iatrogenic maxillary sinusitis towards the other carbohydrate determinants, β-D-galactose was only in ciliary cells of patients with medical form of iatrogenic sinusitis. Most often, in Schneiderian membrane structures, L-fucose, and α-D-monozy had high expression of observed in all forms of dental maxillary sinusitis.

Key words: lectin histochemistry of the Schneiderian membrane, iatrogenic maxillary sinusitis, labeled medicines.

To date, the maxillary sinusitis remains one of the most common diseases. From 5 to 15 % of the adult population in the world suffers from various forms of sinusitis [4; 5]. The share of the maxillary sinusitis in the total number of inflammatory diseases of the paranasal sinuses is 56.0 - 73.0 %, and among the purulent