

# ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКОБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ФТОРХІНОЛОНІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ



Водяник А.А.,  
arkadiy\_junior@ukr

Водяник А.А.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Ключові слова:** мультирезистентний туберкульоз, фторхінолони, геміфлоксацин.

**Вступ.** На сьогоднішній день туберкульоз є одним з найпоширеніших інфекційних захворювань у світі – щорічно близько 8-10 мільйонів людей захворюють на туберкульоз, а 2 мільйони помирають від нього. Туберкульоз є серйозною проблемою охорони здоров'я і для України, через зростання поширеності хіміорезистентного та ВІЛ-асоційованого туберкульозу, що значно ускладнює ефективну боротьбу з цим захворюванням [1, 2].

З поширенням хіміорезистентного туберкульозу виникає потреба, згідно із сучасними стандартами, включити до хіміотерапії антимікобактеріальні препарати (АМБП) II ряду, до яких збережена чутливість мікобактерій [3, 4].

Зберігається підвищений інтерес до вивчення фторхінолонів, оскільки дана група протимікробних препаратів має більш високу активність щодо респіраторних патогенів та має ряд переваг, таких, як: висока біодоступність, оптимальні фармакологічні параметри, зумовлені високим проникненням в клітини макроорганізму з високим рівнем концентрації, що дозволяє досягти терапевтичного ефекту за допомогою низьких доз препаратів при пероральному застосуванні [5, 6].

Одним із перспективних у лікуванні туберкульозу препаратів є геміфлоксацин, препарат IV групи фторхінолонів, синтезований в 1999 році в лабораторії LG Life Sciences (Південна Корея) [7]. У теперішній час препарат успішно використовується, як антибактеріальний засіб при патології органів дихальної системи, що дає можливість розглядати його, як потенційний протитуберкульозний препарат [8, 9].

## Мета дослідження:

1. Вивчити *in vitro* на лабораторних штаммах мікобактерій туберкульозу (МБТ) *H37Rv* можливу антимікобактеріальну активність геміфлоксацину та порівняти її з такою офлоксацину, левофлоксацину та гатіфлоксацину.

2. Визначити можливу мікобактеріостатичну активність крові (МБАК) після прийому геміфлоксацину та

порівняти її з такою після прийому левофлоксацину у практично здорових добровольців.

## Матеріали і методи.

Чутливість до геміфлоксацину, офлоксацину та левофлоксацину і їх можливу мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) відносно міжнародного лабораторного штаму МБТ *H37Rv* визначали *in vitro* у рідкому синтетичному поживному середовищі Проскауера-Бека, до якого *ex tempore* додали 10% об'єму нормальної конячої сироватки [10].

Проводився ряд серійних розведень препаратів у рідкому поживному середовищі, в контрольну пробірку препарати не вносилися для контролю росту штаму МБТ.

На поверхню середовища в кожній пробірці з серійними розведеннями препарату і в контрольній пробірці бактеріологічною лопаткою засівалась молода плівка розміром приблизно 2x2 мм міжнародного лабораторного штаму МБТ *H37Rv*. Засіяні пробірки інкубували в термостаті при  $t=37^{\circ}\text{C}$  на 7-12 днів до моменту, поки плівка в контрольній пробірці (без препарату) не покривала повністю поверхню середовища.

Мікобактеріостатичну активність крові після прийому геміфлоксацину та левофлоксацину визначали у практично здорових добровольців після перорального прийому 320 та 640 мг геміфлоксацину (експериментальні дози) та 1,0 г левофлоксацину.

У визначений час (через 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24 години після прийому препарату) з вени брали по 3 мл крові і вносили в пробірки, що містили по 1 мл 5% розчину цитрату натрію. Кров розводили в 2, 4, 8, 16, 32 і 64 рази рідким поживним середовищем Проскауера-Бека, до якого *ex tempore* додали 10% об'єму нормальної конячої сироватки. Надалі різні розведення крові за допомогою бактеріологічної лопатки засівали молодою плівкою МБТ *H37Rv*, вирощеною на середовищі Проскауера-Бека. Засіяні пробірки інкубували в термостаті протягом 7 днів до

моменту, коли плівка в контрольній пробірці не займала всю її поверхню. Відсутність до цього строку навіть невеликої плівки свідчило про повний бактеріостаз.

**Результати та їх обговорення.**

У ході дослідження встановлено, що мінімальною концентрацією препарату, яка затримує ріст плівки МБТ *H37Rv* є 1,25 мкг/мл геміфлоксацину, 2,5 мкг/мл офлоксацину, 1,5 мкг/мл левофлоксацину та 0,25 мкг/мл гатіфлоксацину.

Результати дослідів *in vivo*, проведені з метою визначення мікобактеріостатичної активності крові (МБАК) геміфлоксацину та левофлоксацину у практично здорових добровольців, показало наступні результати (див. табл. 1):

Таблиця 1

**Мікобактеріостатична активність крові (МБАК) досліджуваних препаратів**

Час забору	Левофлоксацин (1,0 г)	Геміфлоксацин (320 мг)	Гемі флоксацин (640 мг)
Через 1 год.	1:34	–	–
Через 2 год.	1:64	1:64	–
Через 4 год.	1:64	1:32	1:64
Через 6 год.	1:64	1:8	–
Через 8 год.	1:32	–	–
Через 10 год.	1:16	1:4	–
Через 18 год.	1:8	1:2	1:4
Через 24 год.	1:4	1:2	–

Отже після прийому 320 мг геміфлоксацину кров набуває антимікобактеріальної активності протягом як мінімум 10 годин, а подвоєння дози дозволяє подовжити цю активність щонайменше ще на 8 годин. Прийом 1 г левофлоксацину забезпечує антимікобактеріальну активність крові протягом 24 годин.

Концентрацію геміфлоксацину та левофлоксацину в крові розраховували за допомогою мікробіологічного методу – величину БАК множили на показник мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) препарату.

Пероральний прийом 1 таблетки геміфлоксацину (320 мг діючої речовини) здоровими добровольцями призводить до пікової концентрації в їх крові, що становить 80 мкг/мл через 2 години після прийому, тобто в 64 рази перевищує мінімальну інгібуючу концентрацію препарату. Дослідження фармакокінетики також показали, що через 4-6 годин після прийому препарату мікобактеріостатична активність крові знижується до рівня 40 та 10 мкг/мл, що відповідно у 32 та 8 разів перевищує мінімальну інгібуючу концентрацію препарату. Через 18 годин мікобактеріостатична активність крові становить 2,5 мкг/мл, що вдвічі перевищує МІК геміфлоксацину. При прийомі 640 мг препарату спостерігаються вдвічі вищі показники мікобактеріостатичної активності крові, а концентрація 5 мкг/мл, що в 4 рази більше за МІК геміфлоксацину, зберігається протягом щонайменше 18 годин після прийому препарату.

Пероральний прийом 1 г левофлоксацину здоровими добровольцями призводить до пікової концентрації в їх крові через 2 години, що становить 96 мкг/мл і утримується

протягом не менше 6 годин після прийому, тобто в 64 рази перевищує мінімальну інгібуючу концентрацію препарату. Дослідження фармакокінетики також показали, що через 8 годин після прийому левофлоксацину мікобактеріостатична активність крові зберігається на рівні 48 мкг/мл, що перевищує у 32 рази мінімальну інгібуючу концентрацію препарату. Через 10 годин мікобактеріостатична активність крові становить 24 мкг/мл, що перевищує у 16 разів МІК левофлоксацину. Через 18 годин після прийому левофлоксацину мікобактеріостатична активність крові складає 12 мкг/мл, що перевищує у 8 разів МІК левофлоксацину. Через 24 години мікобактеріостатична активність крові становить 6 мкг/мл, що перевищує у 4 рази МІК левофлоксацину.

Таким чином, МБАК в крові пацієнтів після прийому 1,0 г левофлоксацину висока і зберігається протягом 24 годин, тому препарат можна приймати один раз на добу. Що стосується геміфлоксацину, МБАК в крові пацієнтів після його прийому висока та у достатній мірі зберігається протягом 10–18 годин. Однак для визначення кратності та дози прийому геміфлоксацину необхідними є подальші дослідження фармакокінетики препарату, в тому числі у хворих на туберкульоз при комбінованому прийомі препаратів в схемі антимікобактеріальної терапії.

**Висновки.**

Геміфлоксацин *in vitro* виявляє антимікобактеріальну активність і має мінімальну інгібуючу концентрацію відносно міжнародного стандартного лабораторного штаму МБТ *H<sub>37</sub>Rv* на рівні 1,25 мкг/мл, що є високим показником у порівнянні з іншими фторхінолонами та дозволяє розглядати досліджуваний препарат як перспективний у лікуванні туберкульозу.

Затримка росту в розведенні 1:64 протягом перших двох-чотирьох годин після прийому геміфлоксацину (320-640 мг) свідчить про високу МБАК препарату, проте потребує подальшого дослідження для визначення оптимального дозування.

В експериментальних умовах вивчені фармакодинамічні та фармакокінетичні властивості геміфлоксацину у порівнянні з офлоксацином, левофлоксацином та гатіфлоксацином і доведено активність геміфлоксацину відносно лабораторного штаму МБТ *H<sub>37</sub>Rv*, що дозволяє розширити ряд АМБП за рахунок фторхінолону геміфлоксацину з метою більш ефективного лікування хворих на туберкульоз.

Рецензент: д.мед.н., професор Петренко В.І.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Ковальова Г. Г. Актуальні питання та практичні підходи до підвищення ефективності Загальнодержавної програми протидії захворюванню на туберкульоз в Україні [Текст] / Г. Г. Ковальова // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – №4. – 2013. – С. 14–22.
2. Литвиненко, Н. А. Раціональний вибір індивідуалізованих режимів хіміотерапії для хворих на мультирезистентний туберкульоз та туберкульоз із розширеною резистентністю МБТ до протитуберкульозних препаратів [Текст] / Н. А. Литвиненко, С. О. Черненко, М. В. Погребна та ін. // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – №4. – 2013. – С. 45–53.
3. МОЗ України Центр медичної статистики МОЗ України. Туберкульоз в Україні (аналітично – статистичний довідник за 2001–2012 роки) / Під ред. Толстонова О. К. – Київ, 2013.

4. Падейская Е. Н. Фторхинолоны в клинике инфекционных заболеваний [Текст] / Е. Н. Падейская // Инфекции и антимикроб. тер. – 2005. – №7. – С. 107–114.

5. Синопальников А. И. Гемифлоксацин: новые возможности антибактериальной терапии внебольничной пневмонии у взрослых [Текст] / А. И. Синопальников, А. А. Зайцев // Российские медицинские вести. “ 2007. – № 1. – С. 4–12.

6. Яковлев С. В. Значение новых фторхинолонов при внебольничных инфекциях дыхательных путей [Текст] / С. В. Яковлев // Инфекции и антимикроб. тер. – 2001. – №3(4). – С. 116–121.

7. Che-Kim Tan Comparative in vitro activities of the new quinolone nemoxacin, gemifloxacin and other quinolones against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / Che-Kim

Tan, Chih-Cheng Lai et al. // *J of Antimicrob. Chemoth.* – 2009. – P. 1–2.

8. Migliori G. B. Fluoroquinolones: are they essential to treat multidrug-resistant tuberculosis? / G. B. Migliori, C. Lange, E. Girardi et al. // *Eur Respir J.* – 2008. – №31. – P.904–5.

9. Paladino J. A. Is more than one quinolone needed in clinical practice? / J. A. Paladino // *Ann. Pharmacother.* – 2001. – V. 35. – P. 1085–1095.

10. Ruiz-Serrano M. J. In vitro activities of six fluoroquinolones against 250 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* susceptible or resistant to first-line antituberculosis drugs / M. J. Ruiz-Serrano // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* “ 2000. “ №44(9). “ P. 2567–2568.

## ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФТОРХИНОЛОНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Водяник А.А.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

**Резюме.** Изучено in vitro на лабораторных штаммах микобактерий туберкулёза (МБТ) H<sub>37</sub>Rv антимикобактериальную активность гемифлоксацина, проведено сравнение её с таковой у офлоксацина, левофлоксацина и гатифлоксацина. Было определена микобактериостатическая активность крови после приёма гемифлоксацина. Установлено, что гемифлоксацин имеет минимальную ингибирующую концентрацию относительно МБТ на уровне 1,25 мкг/мл, что является высоким показателем по сравнению с другими фторхинолонами и позволяет рассматривать исследуемый препарат как перспективный в лечении туберкулёза.

**Ключевые слова:** туберкулёз с множественной резистентностью, фторхинолоны, гемифлоксацин.

## RESEARCH OF ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY OF FLUOROQUINOLONES IN THE EXPERIMENT

A. Vodyanyk

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

**Summary.** Antimycobacterial activity of gemifloxacin was verified against laboratory strain of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) H<sub>37</sub>Rv in vitro and compared with ofloxacin, levofloxacin and gatifloxacin. Established that hemifloxacin has a minimum inhibitory concentration level of 1.25 mg / ml, which is high compared to other fluoroquinolones and can be considered as a promising investigational drug in the treatment of tuberculosis.

**Key words:** MDR tuberculosis, fluoroquinolones, gemifloxacin.