

УДК 615.281:615.451:615.453:438.135

О.Є. Макарова,
канд. фарм. наук,
Національний університет
харчових технологій, Київ
Л.Ф. Сілаєва, канд. біол. наук
Національний фармацевтичний
університет, Харків

**ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ
АКТИВНОСТІ ДОСЛІДНИХ
ЗРАЗКІВ ПРЕПАРАТУ
«ПРОПОЦИД»**

Проведено вивчення антимікробної активності дослідних зразків присипки під умовною назвою «Пропоцид» на основі поєднання фармакотерапевтичної дії екстрактивних речовин настійки прополісу з сульфаніламідом, у досліджах *in vitro*. Встановлено, що досліджуваний препарат виявляє виражену антимікробну дію. Присипка з настійкою прополісу і стрептоцидом з умовною назвою «Пропоцид» за рівнем антимікробної активності перевищує препарат «Puder propolisovi 3 %» відносно культур *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*, еквівалентна їй відносно культур *Bacillus subtilis* і гриба *Candida albicans*, і поступається відносно культури *Escherichia coli*.

На основі одержаних результатів доведено взаємопідсилення антимікробної дії фенольних сполук з настійки прополісу зі стрептоцидом за рахунок суми ефектів даних діючих речовин у складі лікарської форми, та обґрунтовано найбільш оптимальний склад препарату.

Ключові слова: антимікробна активність, препарати прополісу, фенольні сполуки, сульфаніламід, дерматологія

Дерматологія як наука має особливе значення для людини. Шкіра становить 1/6 частину людського тіла, визначає його естетику, забезпечує захист від впливів зовнішнього середовища. Шкіра є органом, чутливим до впливу зовнішніх факторів навколишнього середовища, а також до змін у органах та системах організму, викликаних патологічними процесами, а шкірні захворювання спричиняють не лише фізичні, але й моральні страждання, впливають на психіку, навіть можуть приводити до інвалідності. Численні екзогенні та ендогенні впливи можуть ускладнювати механізми розвитку шкірних захворювань, подовжувати тривалість перебігу і сприяти хронізації процесу. Це вимагає комплексного підходу до лікування: використання препаратів, які виявляють протизапальну дію, сприяють прискоренню процесів клітинної регенерації, та лікарських форм з необхідними технологічними властивостями: застосовуваний лікарський препарат повинен легко наноситися, забезпечувати поступову адсорбцію ексудату, не пересушуючи здорові тканини й не порушуючи процеси грануляції та епітелізації пошкоджених тканин [2, 3].

Арсенал дерматологічних препаратів для зовнішнього застосування — один з динамічних сегментів фармацевтичного ринку України, який нараховує понад 170 найменувань.

Аналіз літературних джерел медичного напрямку за кілька останніх років свідчить про збільшення кількості хворих на хронічні дерматити, до того ж, за рівнем витрат на лікування вони займають четверте місце у світі серед інших хронічних захворювань. Подібні хвороби не тільки забезпечують масу естетичних незручностей, але й руйнують шкірний покрив, порушуючи тим самим його природні функції — захисну, імунну, рецепторну, терморегулюючу та обмінну [4].

Важливе значення у лікуванні хронічних дерматологічних захворювань має раціонально підібрана, відповідно до сучасних медичних підходів зовнішня терапія.

© О.Є. Макарова, Л.Ф. Сілаєва, 2012

Перспективним напрямком її покращення виступає створення комбінованих лікарських форм, які виявляють вплив на різні етапи протікання патологічного процесу.

Актуальність цілеспрямованого пошуку нових засобів та створення нових ефективних препаратів, зокрема на основі природної сировини з низькою токсичністю та комплексною дією, обумовлена зростаючими вимогами сучасної терапії дерматологічних захворювань. Перспективним класом речовин у цьому відношенні є фенольні сполуки, що входять до хімічного складу настойки прополісу. Їх застосування у дерматології засноване на властивостях, в основі яких полягає механізм антиоксидантної дії (уловлення вільних радикалів та зв'язування іонів металів). Біофлавоноїди — група гідрофільних речовин рослинного походження, які мають схожу будову (дифенольне кільце). Протизапальна та репаративна активність їх виявляється за рахунок того, що при місцевому впливі утворюються нерозчинні комплекси з білками, які утворюють на поверхні ушкодженої тканини найтоншу плівку, що захищає чутливі нервові закінчення від подразнюючої дії продуктів розпаду та у кінцевому рахунку пом'якшує больові відчуття. Крім того, фенольні сполуки сприяють звуженню патологічно розширених кровоносних судин, послаблюючи ексудативну фазу запального процесу, проникаючи всередину клітин крізь мембрани, приймають участь у процесах перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), впливаючи тим самим на щільність мембран, а також вступають у взаємодію з білками у клітинному соку, викликаючи їх осадження [2, 7].

За рахунок комбінації природних речовин з іншими ефективними лікарськими субстанціями можливо досягти підсилення їх лікувальних властивостей. У розробленій нами лікарській формі природні фенольні сполуки поєднуються з сульфаніламідом. Стрептоцид традиційно застосовується медициною як антимікробний засіб для лікування і профілактики ранових інфекцій. Механізм його антимікробної дії полягає у руйнуванні процесів асиміляції мікробною клітиною «ростових факторів», що блокує біохімічні системи, призначені для зв'язування ПАБК, чим порушується обмін речовин і як наслідок призупиняється ріст та розмноження мікроорганізмів.

Поєднання у складі присипки настойки прополісу та стрептоциду дозволяє отримати більш виражений антимікробний ефект. Даний феномен можна пояснити різноспрямованою дією на мікробну клітину: блокуванням біохімічних систем, призначених для зв'язування *n*-амінобензойної кислоти (ПАБК) з боку стрептоциду, та взаємодією фенольних сполук настойки прополісу з білками мікробної клітини за типом ефекту дубильних речовин, що призводить до коагуляції білку, і таким чином — до взаємопідсилення антимікробного ефекту сульфаніламідного засобу та суми фенольних сполук екстрактивних речовин прополісу.

Розроблена нами присипка призначена для усунення проблем дерматологічного характеру, лікування екзем, попріlostей, запальних і гнійно-запальних процесів, гнійничкових висипів на шкірі, які супроводжуються проявами гіперемії та набряку тканин або існує вірогідність їх вторинного інфікування [8]. Відібрані нами зразки присипки були піддані дослідженням, метою яких було наступне:

- визначення антимікробної активності експериментальних зразків присипки з настойкою прополісу та стрептоцидом;
- обґрунтування оптимального складу препарату за мікробіологічними показниками;
- порівняльна оцінка спектру та рівня антимікробної активності найбільш перспективного за отриманими результатами досліджень зразка з препаратами специфічного призначення — «Puder propolisovy 3 %», який містить сухий екстракт прополісу (виробництва «Aripol farma», Польща), та «Дитячої присипки» («Лубнихім-фарм», Україна).

На фармацевтичному ринку України майже відсутні дитячі присипки, які б виявляли лікувальну дію, окрім того, присипки в аптечних мережах реалізуються

БИОТЕХНОЛОГІЯ, МІКРОБІОЛОГІЯ

як парафармацевтичні товари, а не лікарські засоби. Тому в якості препарату порівняння нами була обрана «Дитяча присипка», зареєстрована в Україні як лікарський препарат, а не косметичний засіб для гігієнічного догляду за шкірою.

Дослідні зразки, розроблені нами і представлені в таблиці 1, відрізняються між собою кількісним співвідношенням діючих та допоміжних речовин. Їх антимікробну активність вивчали загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом дифузії в агар, використовуючи як тест-штами еталонні мікроорганізми з американської типової колекції культур: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 885-653 [5, 6, 9]. Цей метод ґрунтується на здатності активно діючих речовин дифундувати в агарове середовище, попередньо засіяне досліджуваною тест-культурою мікроорганізмів. Для проведення експерименту використовували однодобові культури вищезазначених мікроорганізмів, вирощених на твердих поживних середовищах — м'ясо-пептонному агарі на переварі Хоттінгера, який містить 120 мг амінного азоту (для вирощування бактерій), та щільному середовищі Сабуро (для *C. albicans*) [1, 5, 6, 9].

Таблиця 1. Порівняльна характеристика антимікробної активності експериментальних зразків присипки «Пропоцид» з препаратами специфічного призначення

№ п/п	Зразок	Вміст речовин, г	Діаметр зон затримки росту мікроорганізмів, мм				
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1	№1	настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 10,0 аеросилу 1,0 цинку оксиду 20,0 тальку 68,2	19,0±0,1	19,0±0,1	20,0±0,1	19,0±0,1	20,0±0,1
2	№1А	настойки прополісу 20,0 мл аеросилу 1,0 цинку оксиду 20,0 тальку 78,2	16,0±0,1	13,0±0,1	14,0±0,1	16,0±0,1	16,0±0,1
3	№1В	стрептоциду 10,0 аеросилу 1,0 цинку оксиду 20,0 тальку 69,0	17,0±0,1	17,0±0,1	17,0±0,1	17,0±0,1	15,0±0,1
4	№2	настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 10,0 тальку 89,2	18,0±0,1	16,0±0,1	16,0±0,1	17,0±0,1	18,0±0,1
5	№2А	настойки прополісу 20,0 мл тальку 99,2	15,0±0,1	13,0±0,1	14,0±0,1	15,0±0,1	16,0±0,1
6	№2В	стрептоциду 10,0 тальку 90,0	16,0±0,1	15,0±0,1	15,0±0,1	14,0±0,1	15,0±0,1
7	Puder propolis 3 %	екстракту прополісу 3,0 тальку 97,0	20,0±0,1	19,0±0,1	18,0±0,1	19,0±0,1	20,0±0,1
8	Дитяча присип- ка	крохмалю 20,0 цинку оксиду 10,0 тальку 70,0	12,0±0,1	12±0,1	12±0,1	12±0,1	12±0,1

Примітка: n = 5, P = 95 %.

Розплавлене поживне середовище (10 мл) розливали тонким шаром у чашки Петрі однакового діаметру, після застигання на ньому розміщували на рівній відстані один від одного стерильні циліндрики з нержавіючої сталі діаметром 8 мм. Заливали

розплавлений та охолоджений до 45 °С верхній шар поживного середовища (15 мл) з внесеною в нього відповідною культурою мікроорганізму. Мікробне навантаження складало 500 тис. мікробних клітин в 1 мл агару для бактерій та 25 тис. мікробних клітин в 1 мл середовища — для гриба *Candida*. Після застигання агару стерильним пінцетом виймали циліндри і в утворені лунки вносили досліджувані зразки препарату. Чашки Петрі інкубували в термостаті протягом 24 годин при 37 °С з посівами бактерій, та при 24 °С — з посівами гриба *Candida*, після чого визначали рівень антимікробної активності за діаметром зон затримки росту тест-мікроорганізмів (мм) навколо лунок із внесеними зразками. Результати оцінювали за наступною шкалою:

- діаметр зони затримки росту досліджуваного мікроорганізму менше 14 — 15 мм — стійкий до впливу препарату штамп;
- у межах 15 — 18 мм — слабо чутливий до впливу препарату штамп;
- діаметр зони затримки росту досліджуваного мікроорганізму більше 18 мм — чутливий до впливу препарату штамп.

Для кожного зразка дослідження проводили у шестикратних повторах відносно кожної з використаних тест-культур. Статистичну обробку отриманих результатів дослідження здійснювали за критерієм Стьюдента ($P < 0,5$). З метою наукового обґрунтування доцільності поєднання стрептоциду з настоячкою прополісу й доведення їх синергізму, нами були додатково виготовлені по два варіанти досліджуваних зразків, з виключення однієї з основних діючих речовин — настоячки прополісу (зразок №1Б, та №2Б), та стрептоциду (зразок №1А, та №2А).

Як свідчать одержані результати, зразки виявили антимікробну дію відносно використаних тест-штамів, але найбільш виражений рівень ефекту спостерігався у зразка № 1. Це може пояснюватися наступним: введення до складу зразка антифрикційної речовини аеросилу сприяє розрихленню суміші, підвищенню шксткості маси, а за рахунок нейтралізації заряду на поверхні часток, знижується адгезивність і зчеплення часток між собою, тим самим покращується розподілення часток присипки по поверхні і вивільнення діючих речовин, що як наслідок опосередковано сприяє підвищенню антимікробної активності препарату. Виключення стрептоциду зі складу препарату призвело до зниження антимікробної активності відносно культур бактерій застосованих тест-штамів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* та гриба *C. albicans*. У той же час звертає на себе увагу те, що зразок зі стрептоцидом без настоячки прополісу значно поступається за рівнем антимікробної активності зразку №1 відносно всіх використаних тест-штамів, проте перевищує за активністю зразок № 1А, який містить тільки настоячку прополісу в якості діючої речовини.

Результати порівняльного вивчення спектру та рівня антимікробної активності найбільш перспективного складу присипки «Пропоцид» (зразок №1) та препаратів специфічного призначення — «Дитячої присипки» та присипки з прополісом «Puder propolisovy 3 %» свідчать, що присипка «Пропоцид» за рівнем антимікробної активності дещо поступається препарату порівняння «Puder propolisovy 3 %» відносно культур *E. coli*, *B. subtilis*, *C. Albicans*, за виключенням більш вираженої активності по відношенню до культури *P. aeruginosa*. В умовах експерименту «Дитяча присипка» не виявила антимікробної активності.

Порівняльне вивчення спектру та рівня антимікробної активності складів №1 та №2 показало, що наявність у складі зразка №1 аеросилу сприяє кращому вивільненню діючих сполук і тим самим підвищенню антимікробного ефекту препарату, про що свідчать більш виражені зони затримки росту мікроорганізмів.

Враховуючи той факт, що сульфаніламідним препаратам іноді притаманні побічні ефекти (порушення кровотворення, зміна картини крові, можливий негативний вплив на функції печінки та нирок при тривалому застосуванні), нами розглянута доцільність зменшення його вмісту у препараті. З метою вибору зразка з мінімальним вмістом стрептоциду але збереженням вираженого антимікробного

БИОТЕХНОЛОГІЯ, МІКРОБІОЛОГІЯ

ефекту поряд з необхідними фармакологічними властивостями, нами було виготовлено кілька складів присипки з різним вмістом стрептоциду. Результати досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 Порівняльний аналіз антимікробної активності зразків з різним вмістом стрептоциду

№ п/п	Зразок	Вміст речовин, г	Діаметр зон затримки росту мікроорганізмів, мм				
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1	А	настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 10,0 аеросилу 1,0 цинку оксиду 20,0 тальку 68,2	19,0±0,1	17,0±0,1	18,0±0,1	19,0±0,1	19,0±0,1
2	В	настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 5,0 аеросилу 1,0 цинку оксиду 20,0 тальку 73,2	19,0±0,1	16,0±0,1	17,5±0,1	19,0±0,1	19,0±0,1
3	В	настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 2,0 аеросилу 1,0 цинку оксиду 20,0 тальку 73,2	16,5±0,1	14,5±0,1	15,5±0,1	16,0±0,1	16,0±0,1
Примітка: n = 5, P = 95 %.							

Як свідчать представлені результати досліджень, за рівнем антимікробного ефекту не виявлено суттєвої різниці між складами з вмістом стрептоциду 5,0 г (5 %) та 10,0 г (10 %) на 100,0 г препарату відносно культур *E. coli*, *B. subtilis* та *C. albicans*, за виключенням більш вираженого ефекту складу з вмістом стрептоциду 10,0 г (10 %) по відношенню до культур *S. aureus* та *P. aeruginosa*. Зразок з вмістом стрептоциду 2,0 г (2 %) показав знижений рівень антимікробної активності по відношенню до усіх використаних культур, що дозволяє зробити висновок про недоцільність зниження вмісту стрептоциду до 2 %, оскільки зменшується антимікробна активність і лікувальний ефект.

Таким чином, виходячи з результатів досліджень можна стверджувати, що поєднання двох діючих речовин різної природи в одній лікарській формі дозволяє досягти більш повного й вираженого ефекту за рахунок різного механізму впливу на мікробну клітину.

Висновки

- Експериментальні зразки з настійкою прополісу і стрептоцидом проявляють широкий спектр антимікробної дії.
- Введення до складу присипки з настійкою прополісу стрептоциду сприяє підвищенню антимікробної дії препарату за рахунок суми ефектів.
- Присипка з настійкою прополісу і стрептоцидом з умовною назвою «Пропоцид» за рівнем антимікробної активності перевищує препарат «Puder propolisovi 3 %» відносно культур *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*, еквівалентна їй відносно культур *Bacillus subtilis* і гриба *Candida albicans*, і поступається відносно культури *Escherichia coli*.
- За мікробіологічними показниками обґрунтовано оптимальний склад присипки: настойки прополісу 20 мл; стрептоциду 10,0 г; аеросилу 1,0 г; цинку оксиду 20,0; тальку 68,2 г.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — Харків: РІРЕГ, 2004. — 556 с.
2. Клинические рекомендации + фармакологический справочник / под ред. И.Н. Денисова, Ю.Л. Шевченко. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 1184 с.
3. Т.В. Проценко, Л.Д. Калужная, Н.В. Нагорная. Из кожи вон... Актуальные вопросы терапии атопического дерматита. — «Здоров'я України» — № 23, 2009. — с. 52
4. Ю.В. Андрашко Новое в лечении аллергических дерматитов. — «Здоров'я України» — №21, 2007. — с. 39
5. Ю.Л.Волянський, І.С.Грищенко, В.П.Широкобоков та ін. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: Метод. Рекоменд. — К., 2004. — 38 с.
6. European Pharmacopoeia 2002. — 4th edition. — Strasbourg, 2001. — 1287 p.
7. F.M. Hajjaj, M.S. Salek, M.K.A. Basra. Clinical decision making in dermatology: observation of consultations and the patients' perspectives. — Dermatology №5. — 2010. — P. 331-341.
8. Kligman A.M. A Dermatologist Looks to the Future: Promises and Problems. Dermatologic Clinics 2000, №18 (4) — P. 47.
9. The International Pharmacopoeia, 3 Ed. — World Health Organization. — Geneva. — 2005. — 2532 p.

О.Е. Макарова, Л.Ф. Силаева

Изучение антимикробной активности экспериментальных образцов препарата «пропоцид»

Проведено изучение антимикробной активности экспериментальных образцов присыпки под условным названием «Пропоцид» на основе комбинации фармакотерапевтического действия экстрактивных веществ настойки прополиса и сульфаниламида, в опытах *in vitro*. Установлено, что исследуемый препарат оказывает выраженное антимикробное действие. Присыпка с настойкой прополиса и стрептоцидом под условным названием «Пропоцид» по уровню антимикробной активности превышает препарат «Puder propolisowy 3 %» относительно культур *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, эквивалентна ему относительно культур *Bacillus subtilis* и гриба *Candida albicans*, и уступает относительно культуры *Escherichia coli*.

На основе полученных результатов доказано взаимоусиление антимикробного действия фенольных соединений из настойки прополису со стрептоцидом за счет суммирования эффектов данных действующих веществ в составе лекарственной формы, а также обоснован наиболее оптимальный состав препарата.

Ключевые слова: антимикробная активность, препараты прополиса, фенольные соединения, сульфаниламиды, дерматология

О. Makarova, L. Sytaieva

Study of antimicrobial activity of experimental samples of the «propotsyd» drug

The study of antimicrobial activity of the experimental powder samples under the code name «Propotsyd» based on a combination of pharmacotherapeutic action of propolis tincture of extractives and sulphanilamide, in experiments *in vitro*. Found that the investigational drug has a strong antimicrobial effect.

On the basis of received results mutually strengthening of antimicrobial activity of propolis extractives from propolis tincture with streptocid at the expense of sum effects of existing databases in the composition of medicine form is proved.

Key words: antimicrobial effect, pharmaceuticals of propolis, phenol connections, sulphanilamide, dermatology.

e-mail: jimp@ukr.net

Надійшла до редколегії 6.06.2011 р.