

*Рекомендована д.ф.н., професором Д.І.Дмитрієвським*

УДК 615.281:615.451.:615.453:438.135

## ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПРИСИПКИ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН НАСТОЙКИ ПРОПОЛІСУ ТА СТРЕПТОЦИДУ

О.Є.Макарова, С.О.Тихонова, Л.Ф.Сілаєва

Національний фармацевтичний університет

**Досліджені мікробіологічні властивості присипки з настоїкою прополісу та стрептоцидом. На основі результатів досліджень встановлено, що введення до складу присипки з настоїкою прополісу другої діючої речовини — стрептоциду сприяє підвищенню antimікробної дії препарату. Обґрутовано оптимальний вміст діючих речовин у присипці за мікробіологічними показниками. Встановлено, що препарат виявляє виражену antimікробну дію та не поступається препарату порівняння “Puder propolisowy 3%” (“Apipol farma”, Польща).**

Сучасна дерматологія має в арсеналі широкий асортимент ранозагоюючих засобів, серед яких заслуговують на особливу увагу препарати на основі природних сполук [3, 9]. Натуральні компоненти не токсичні, виявляють м'яку дію та викликають меншу кількість проявів побічних реакцій, що має особливо важливе значення у педіатричній практиці та при довготривалому лікуванні [9, 11]. Перспективним напрямком у медичному відношенні є створення нових препаратів на основі продуктів бджільництва завдяки цінності багатовікового досвіду їх застосування, а також достатнім сировинним ресурсам [1]. Прополіс та його субстанції мають широкий діапазон терапевтичної дії (протизапальну, antimікробну, ранозагоючу, капілярозміцнюючу, противірусну та ін.). Під дією фенольних сполук, що входять до складу прополісу, ефективно послаблюється та усувається ексудативний компонент запальної реакції, що пояснюється мембраностабілізуючим та мембрanozmіцнюючим впливом фенолів, а також їх здатністю мобілізувати в організмі власні механізми гомеостазу [1, 10]. Оскільки прополіс є цінним джерелом біологічно активних речовин, полівалентних за фармакологічною дією, він виявляє також протисвербіжний та анестезуючий ефект, сприяє розсмоктуванню інфільтратів. Ці властивості ефективно використовуються при лікуванні в'ялогранулюючих ран, опіків, у тому числі інфікованих, пролежнів, опріlostей з проявами гіперемії та набряку шкірних складок [1, 3, 9, 11].

Враховуючи актуальність застосування лікарських засобів на основі природних сполук, у Національному фармацевтичному університеті ведуться дослідження з розробки та впровадження нових препаратів на основі продуктів бджільництва. З метою розширення асортименту засобів для лікування захворювань та пошкоджень шкіри нами проводились дослідження з розробки присипки з настоїкою прополісу та стрептоцидом під назвою “Пропоцид”. Нами були заплановані розробка складу і технологія присипки, вивчення фізико-технологічних властивостей, мікробіологічної і фармакологічної активності. Розроблена присипка при застосуванні для лікування ран, опріlostей та ін. повинна виявляти antimікробну, протизапальну, ранозагоючу дію, прискорюючи процеси грануляції, рівномірно розподіляючись по поверхні і забезпечуючи адсорбування ексудату та вивільнення діючих речовин.

Для мікробіологічних досліджень нами були відібрані 5 експериментальних зразків, які відрізнялися між собою за складом та співвідношенням інгредієнтів. В якості діючих речовин до складу присипки входять настоїка прополісу 10% та стрептоцид. Їх вибір був обґрутований тим, що настоїка прополісу виявляє виражену протизапальну та ранозагоючу дію, а стрептоцид місцево застосовується як antimікробний засіб для лікування та профілактики ранових інфекцій [6, 8]. Стрептоцид виявляє antimікробну дію по відношенню до значної кількості різновидів збудників. Поєднання цих діючих речовин у складі присипки повинно взаємопідсилювати лікувальний ефект кожного з цих інгредієнтів.

Мета наших досліджень полягала в:

- порівняльному визначення antimікробної активності експериментальних зразків присипки з настоїкою прополісу і стрептоцидом;
- мікробіологічному обґрутуванню оптимального складу присипки з урахуванням кількісного співвідношення діючих і допоміжних речовин;
- порівняльному вивчення antimікробної активності присипки з настоїкою прополісу і стреп-

Таблиця 1

Антимікробна активність експериментальних зразків присипки з настоїкою прополісу і стрептоцидом

Зразок	Склад зразків, г	Діаметр зони затримки росту тест-штаму, мм				
		S. aureus ATCC 25923	E. coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 9027	B.subtilis ATCC 6633	C.albicans ATCC 885-653
1	Настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 10,0 г аеросилу 1,0 г цинку окису 20,0 г тальку до 100,0 г	21,2±0,5	18,0±0,1	19,6±0,6	19,3±0,9	20,0±0,1
1 А	Настойки прополісу 20,0 мл аеросилу 1,0 г цинку окису 20,0 г тальку до 100,0 г	16,5±0,1	13,2±0,1	14,0±0,1	16,8±0,8	16,0±0,1
1 Б	Стрептоциду 10,0 г аеросилу 1,0 г цинку окису 20,0 г тальку до 100,0 г	17,4±0,5	16,0±0,4	17,0±0,1	16,7±0,7	15,1±0,2
2	Настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 10,0 г тальку до 100,0 г	18,6±1,6	16,0±0,4	16,0±0,1	17,2±0,4	18,2±0,5
2 А	Настойки прополісу 20,0 мл тальку до 100,0 г	15,0±0,1	13,1±0,3	14,3±0,6	15,0±0,1	16,0±0,2
2 Б	Стрептоциду 10,0 г тальку до 100,0 г	16,5±0,4	15,2±0,1	15,1±0,3	14,9±0,7	15,0±0,1

тоцидом та препаратів специфічного призначення — “Puder propolisovy 3%” (“Apipol farma”, Польща) та “Дитячої присипки” (“Лубнихім-фарм”, Україна).

#### Матеріали та методи

Експериментальні зразки присипки з настоїкою прополісу і стрептоцидом були розроблені на кафедрі аптечної технології ліків НФаУ. Їх склад відрізняється між собою кількісним співвідношенням діючих і допоміжних речовин (табл. 1). З метою обґрунтування доцільності вибору двох діючих речовин — настойки прополісу і стрептоциду були виготовлені контрольні зразки присипки з виключенням зі складу однієї з діючих речовин — стрептоциду (зразок №1А) і настойки прополісу (зразок №1Б).

З метою визначення впливу на антимікробну активність присипки допоміжних речовин — аеросилу і цинку окису були виготовлені зразки присипки з виключенням зі складу цих речовин, які також використовували в якості контролю (зразок №2).

З урахуванням того факту, що сульфаніламідним препаратам і, зокрема, стрептоциду іноді властиві деякі побічні ефекти (порушення кровотворення, зміна картини крові тощо), було проведено дослідження антимікробної активності зразків з різними концентраціями стрептоциду з метою вибору мінімальної, яка б забезпечувала достатній рівень антимікробного ефекту препарату [5, 7].

В якості тест-штамів використовували еталонні штами з американської типової колекції культур мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885-653. В експериментах використовували однодобові культури мікроорганізмів, виро-

щених на твердих поживних середовищах — м'ясо-пептонному агарі (для бактерій) і агарі Сабуро (для гриба *Candida albicans*).

Вивчення антимікробної активності досліджуваних зразків і препаратів порівняння проводили загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом дифузії в агар у модифікації “колодязів” [2, 4]. Цей метод ґрунтуються на здатності активно діючих речовин дифундувати в агарове середовище, попередньо засіяне досліджуваною тест-культурою мікроорганізмів.

Розплавлене агарове поживне середовище охолоджували до 45°C, розливали у чашки Петрі в об’ємі 10 мл. Після застигання нижнього шару агару на ньому розміщали шість стерильних циліндрів із нержавіючої сталі висотою 10 мм і діаметром 8 мм, навколо яких розливали другим шаром середовище в об’ємі 15 мл, засіяне відповідними культурами мікроорганізмів. Мікробне навантаження складало  $1 \times 10^7$  КУО на 1 мл середовища. Після застигання верхнього шару агару цилінди виймали стерильним пінцетом і в утворені лунки вносили препарат. Чашки Петрі витримували протягом 1 год при кімнатній температурі, після чого інкубували у термостаті протягом 24 год при температурі 37°C. Про рівень антимікробної активності експериментальних зразків і препаратів порівняння судили за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з внесеним зразком, оцінюючи результати за такою шкалою:

- діаметр зони затримки росту мікроорганізму <14-15 мм — стійкий штам;
- 15-18 мм — слабочутливий штам;
- >18 мм — чутливий штам.

Дослідження проводилися у шестикратних повторах відносно кожної тест-культури. Статистич-

Таблиця 2

Антимікробна активність присипки з настоїкою прополісу і стрептоцидом залежно від вмісту стрептоциду

Зразок	Склад зразків, г	Діаметр зони затримки росту тест-штаму, мм				
		S. aureus ATCC 25923	E. coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 9027	B.subtilis ATCC 6633	C.albicans ATCC 885-653
1	Настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 10,0 г аеросилу 1,0 г цинку окису 20,0 г тальку до 100,0 г	21,2±0,5	18,0±0,1	19,6±0,6	19,3±0,9	20,0±0,1
2	Настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 5,0 г аеросилу 1,0 г цинку окису 20,0 г тальку до 100,0 г	17,0±0,4	14,9±0,1	19,0±0,1	18,2±0,4	19,4±0,4
3	Настойки прополісу 20,0 мл стрептоциду 2,0 г аеросилу 1,0 г цинку окису 20,0 г тальку до 100,0 г	14,6±1,2	11,6±0,5	14,0±0,5	15,6±0,4	14,4±0,6

ну обробку результатів дослідження проводили за критерієм Стьюента ( $P<0,5$ ).

### Результати та їх обговорення

Як свідчать результати досліджень, наведені в табл. 1, всі досліджувані експериментальні зразки присипки проявили широкий спектр антимікробної дії, що включав грампозитивні, грамнегативні культури мікроорганізмів та культуру гриба *Candida albicans*. Порівняльний аналіз рівня антимікробної активності зразків залежно від їх складу, кількісного співвідношення діючих і допоміжних речовин дозволив виявити наступне. Максимальний рівень антимікробної активності виявив зразок №1, що містить дві діючі речовини — настойку прополісу і стрептоцид. Так, діаметр зони затримки росту навколо лунок із внесеним зразком №1 варіював від 18,0 до 21,2 мм відносно використаних тест-штамів, у той час як зони затримки росту для зразків №1А (без стрептоциду) і №1Б (без настойки прополісу) складали 13,2–16,5 мм і 15,217,4 мм відповідно. Найбільшою чутливістю стосовно зразка №1 відрізнялись культура *Staphylococcus aureus* (21,2 мм) і гриб *Candida albicans* (20,0 мм).

З метою визначення впливу допоміжних речовин — аеросилу і цинку окису на рівень антимікробної активності присипки було проведено порівняльний аналіз антимікробної дії зразка, який містить ці речовини (зразок №1) та при їх відсутності (зразок №2). Як свідчать результати досліджень (табл. 1), зразок №2 поступається за рівнем антимікробної активності зразку №1, про що свідчать відповідні зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунок з внесеним зразком №2, достовірно нижчі у порівнянні з зразком №1.

Таким чином, введення до складу присипки поряд з настоїкою прополісу другої діючої речовини — стрептоциду сприяє підвищенню її антимікробної дії. Можна припустити, що більш виражений антимікробний ефект виявляється за рахунок різнонаправленого впливу на мікробну

клітину: блокуванням біохімічних систем мікробної клітини, призначених для зв'язування парамінобензойної кислоти, яка входить до так званих “факторів росту”, що притаманно стрептоциду як сульфаніламідному препарату, і взаємодією фенольних сполук настойки прополісу з білками мікробної клітини за типом ефекту дубильних речовин, що в сумі призводить до більш глибокого порушення обміну речовин і процесів розмноження мікробних клітин у порівнянні з антимікробною дією зразків, до складу яких входять окремо взяті діючі речовини. У той же час введення до складу зразка антифібріцької речовини аеросилу сприяє розрихленню суміші, підвищенню сипкості за рахунок нейтралізації заряду на поверхні часток, зниженню адгезивності і зчеплення часток між собою, рівномірному розподілу препарату по поверхні і тим самим покращенню вивільнення діючих речовин, що, як наслідок, сприяє підвищенню антимікробної активності препарату.

Порівняльний аналіз антимікробної активності зразків присипки, які відрізнялися між собою різним вмістом стрептоциду — 10,0% (зразок №1); 5,0% (зразок №2) і 2,0% (зразок №3) показав наступне. Більш виражену активність відносно використаних тест-штамів проявив зразок із вмістом стрептоциду 10,0% (табл. 2.). Привертають увагу незначна різниця у чутливості культур *Bacillus subtilis* і гриба *Candida albicans* до зразків з вмістом стрептоциду 5% та 10,0%, більш виражене зниження чутливості інших культур до зразка з вмістом стрептоциду 5,0% і значне зниження чутливості всіх культур при зменшенні вмісту стрептоциду до 2,0%.

Таким чином, вміст стрептоциду, який забезпечує максимально виражений антимікробний ефект препарату, складає 10%. Зразок №2, вміст стрептоциду у якому становить 5%, також може бути перспективним за специфічним призначенням за рахунок зменшення можливих побічних впливів у деяких хворих завдяки зниженному вмісту

Таблиця 3

Порівняльна антимікробна активність присипки “Пропоцид” і препаратів  
“Puder propolisovy 3%” та “Дитяча присипка”

Зразок	Препарати	Діаметр зони затримки росту тест-штаму, мм				
		S. aureus ATCC 25923	E. coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 9027	B.subtilis ATCC 6633	C.albicans ATCC 885-653
1	“Пропоцид”	21,2±0,5	18,0±0,1	19,6±0,6	19,3±0,9	20,0±0,1
2	“Puder propolisovy 3%”	20,0±0,1	20,5±0,9	18,2±0,1	19,1±0,1	19,8±0,8
3	“Дитяча присипка”	12,0±0,1	12,1±0,2	11,7±0,8	12,0±0,1	12,0±0,1

стрептоциду у разі довготривалого використання препарату. Зменшення вмісту стрептоциду до 2,0% з нашої точки зору є недоцільним внаслідок значного зниження антимікробної активності препарату.

Порівняльне вивчення антимікробної активності найбільш перспективного складу присипки (зразок №1), якому дали назву “Пропоцид”, і препаратів специфічного призначення “Puder propolisovy 3%” та “Дитячої присипки” показало наступне. Присипка “Пропоцид” за рівнем антимікробної активності незначно поступається препарату порівняння “Puder propolisovy 3%” відносно культури *Escherichia coli*, практично еквівалентна їй відносно культур *Bacillus subtilis* і гриба *Candida albicans* і перевищує за рівнем активності відносно культур *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* (табл. 3). “Дитяча присипка” антимікробну дію в умовах експерименту не проявила.

## ВИСНОВКИ

- Експериментальні зразки присипки з настоюкою прополісу і стрептоцидом проявляють широкий спектр антимікробної дії.
- Введення до складу присипки з настоюкою прополісу другої діючої речовини — стрептоциду сприяє підвищенню антимікробної дії препарату.
- Обґрунтовано оптимальний вміст діючих речовин присипки за мікробіологічними показниками: настоїки прополісу 10% — 20,0 мл, стрептоциду — 5,0 у 100,0 г препарату.
- За рівнем антимікробної активності присипка “Пропоцид” перевищує антимікробну активність польського препарату “Puder propolisovy 3%” відносно культур *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*, еквівалентна їй відносно культур *Bacillus subtilis* і гриба *Candida albicans* і незначно поступається відносно культури *Escherichia coli*.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Аптерапія: погляд у майбутнє: Матер. II з їзди аптерапевтів України (31 жовт.-1 листоп. 2002 р., м. Харків) / Ред. В.П.Черних, О.І.Тихонов, Т.Г.Ярних та ін. — Х.: Вид-во НФаУ; “Золоті сторінки”, 2002. — 424 с.
2. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: Метод. рекоменд. / Ю.Л.Волянський, І.С.Грищенко, В.П.Широбоков та ін. — К., 2004. — 38 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. — М.: ООО “Изд-во Новая Волна”, 2007. — 1200 с.
4. Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В.И.Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. — С. 543-547.
5. Elewski B.E. // Clin. Microbiol. Rev. — 1998. — Vol. 11. — P. 415-425.
6. European Pharmacopoeia. — 4-th ed. — Strasburg, 2001. — 2416 p.
7. Kahlmeter G.J. // Antimicrob. Agents and Chemother. — 2003. — Vol. 51. — P. 69-76.
8. Karlowsky J.A., Kelly L.J., Thornsberry C. et al. // Antimicrob. Agents and Chemother. — 2002. — Vol. 46. — P. 245-255.
9. Pandya A.G., Guevara I.L. // Dermatol. Clin. — 2005. — Vol. 18 (1). — P. 91-98.
10. Westphal J.F., Vetter D., Brogard J.M. // Antimicrob. Agents and Chemother. — 2004. — Vol. 33. — P. 387-401.
11. Winter R., Rein E., Kharazami A. // Inflammato-pharmacology. — 1999. — №7. — P. 63-68.

УДК 615.281:615.451.:615.453:438.135

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИСЫПКИ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НАСТОЙКИ ПРОПОЛИСА И СТРЕПТОЦИДА

О.Е.Макарова, С.А.Тихонова, Л.Ф.Силаева

Исследованы микробиологические свойства присыпки с настойкой прополиса и стрептоцидом. На основе результатов исследований установлено, что введение в состав присыпки с настойкой прополиса второго действующего вещества стрептоцида способствует повышению антимикробного действия препарата. Обосновано оптимальное содержание действующих веществ в присыпке по микробиологическим показателям. Установлено, что препарат оказывает выраженное антимикробное действие и не уступает препарату сравнения “Puder propolisovy 3%” (“Apipol farma”, Польша).

UDC 615.281:615.451.:615.453:438.135

RESEARCH OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF POWDER ON THE BASIS OF COMBINATION OF OPERATING MATTERS OF TINCTURE OF PROPOLIS AND STREPTOCID

O.Ye.Makarova, S.A.Tikhonova, L.F.Silaeva

The microbiological properties of the powder with the propolis tincture and streptocid have been studied. On the basis of the research results it has been found that introduction the second active substance — streptocid in the composition of the powder with the propolis tincture promotes the increase of the drug's antimicrobial action. The optimal content of active substances in the powder by the microbiological indexes has been grounded. The drug has been shown to have the marked antimicrobial action and is not inferior to the reference drug — “Puder propolisovy 3%” (“Apipol farma”, Poland).