

Рекомендована д.м.н., професором А.І.Березняковою

УДК 615.015.11:167.2:638.1:615.453.2:615.262.1

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИСИПКИ “ПРОПОЦИД”

О.Є.Макарова, С.О.Тихонова, О.І.Тихонов, Л.В.Яковлева

Національний фармацевтичний університет

Представлені результати біологічних досліджень з метою створення нового дерматологічного засобу на основі продуктів бджільництва та стрептоциду. На підставі проведених біологічних досліджень присипки “Пропоцид”, до складу якої в якості діючих речовин входять екстрактивні речовини настойки прополісу та стрептоцид, встановлено протизапальну і репаративну дію препарату поряд з відсутністю алергізуючого впливу та місцевоподразнюючої дії при нашкірному нанесенні.

Дерматологічні захворювання шкіри — дерматити та дерматози, опрілості, алергійні контактні дерматити відносяться до найбільш поширених патологій шкіри на теперішній час [2, 7, 10]. Хронічний перебіг та часті рецидиви, наприклад, алергійних дерматитів вимагають застосовувати лікувальні засоби протягом тривалого періоду, що часто пов'язано з можливістю розвитку побічних впливів при лікуванні не тільки місцево на шкіру, але навіть на всі органи та системи організму [4, 9, 8, 11]. Тому на сучасному етапі перспективним напрямком фармацевтичних досліджень є створення нових дерматологічних засобів, максимального позбавлених токсичної дії [6, 9].

Прополіс, а також лікарські засоби на його основі завдяки властивостям фенольних сполук, що містяться у складі, можуть відповідати зазначеним вимогам. Настойка прополісу при використанні виявляє широкий спектр фармакологічної дії: протизапальну, репаративну, анестезуючу, противірусну, антимікробну, антиоксидантну та мембраностабілізуючу і що є дуже важливим — нетоксична для організму навіть при тривалому застосуванні [3, 5].

Враховуючи актуальність створення лікарських препаратів на основі природних сполук і з метою розширення асортименту засобів для лікування шкіри нами проводились дослідження з розробки присипки під назвою “Пропоцид”, до складу якої входять настойка прополісу та стрептоцид. Повний комплекс доклінічних досліджень препарату проведено в ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора Л.В.Яковлевої [1].

Матеріали та методи

Однією з токсикологічних характеристик лікарських препаратів є показник LD₅₀, що визна-

чається при вивченні гострої токсичності. Оскільки присипка “Пропоцид” є засобом для зовнішнього застосування, вивчали її можливий токсичний вплив внаслідок шкірно-резорбтивної дії. Вивчення гострої токсичності присипки “Пропоцид” проводили на білих щурах масою 150-200 г. Препарат наносили в дозі 3 г/кг на вистрижену ділянку шкіри розміром більш ніж 50% від загальної площі поверхні тіла тварини. Спостереження за експериментальними тваринами вели протягом 14 діб. Нанесення присипки не виявило токсичної дії. У результаті експерименту встановлено, що за класифікацією речовин по токсичності присипка “Пропоцид” відноситься до класу малотоксичних речовин (LD₅₀>3000 мг/кг).

Вивчення гострої токсичності присипки “Пропоцид” проводили за допомогою експрес-методу Т.В.Пастушенко та співавт. на білих щурах при пероральному введенні у вигляді водної суспензії. Кожну дозу досліджуваного препарату випробовували на двох тваринах. Про ступінь токсичності судили за зміною загального стану тварин, спостереження за якими вели протягом 14 діб. Після введення максимальної дози 15000 мг/кг ознак інтоксикації не спостерігали. Результати експерименту показали, що присипка “Пропоцид” при пероральному введенні щурам за класифікацією К.К.Сидорова відноситься до класу нешкідливих речовин, LD₅₀>15000 мг/кг. Результати досліджень представлені в табл. 1.

Дослідження протизапальної дії присипки “Пропоцид” проводили на моделі алергійного контактного дерматиту у морських свинок, викликаного фенілгідразином. На вистрижену ділянку лівої половини тулуба за допомогою дозаторної піпетки наносили 0,1 Моль насиченого спирто-ацетонового розчину (1:1) фенілгідразину. Сенсibilізацію тварин проводили протягом 4-х діб, за які тварини одержували 4 аплікації. Шкірні проби проводили через 3 тижні від початку сенсibilізації на ділянці правої половини тулуба 0,1 Моль 10% спирто-ацетонового розчину фенілгідразину. Місцеву реакцію спостерігали через 24 год. Аплікації алергену та шкірні проби у всіх тварин ставили на ідентичні ділянки. Оцінку результатів проводили за п'ятибальною системою: 0 — відсутність види-

Таблиця 1

Дані досліджень визначення ЛД₅₀ присипки “Пропоцид” на щурах при пероральному введенні

Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі	Ефект спостережень, загибель тварин / кількість тварин
5000	2	0/2
10000	2	0/2
15000	2	0/2
10000	6	0/6
15000	6	0/6

мої реакції; 1 — слабка еритема; 2 — чітка еритема; 3 — те ж з ущільненням; 4 — різка еритема з проявами геморагії та вираженою інфільтрацією; 5 — серозно-геморагічна шкірка з виразками. У тварин вимірювали товщину шкірної складки на ділянці постановки шкірних проб до нанесення дози феніл-гідразину та при контролі реакції. Через 24 год після нанесення дози фенілгідразину тваринам дослідних груп щодня наносили присипку “Пропоцид” та препарат порівняння “Дитячу присипку” виробництва Луганського хімфармзаводу (ХФЗ). Групою контрольної патології служили неліковані тварини. Результати експерименту представлені в табл. 2.

Як показали дослідження, через 24 год після нанесення розчину у всіх тварин розвинулася виражена запальна реакція з достовірним збільшенням товщини шкірної складки та видимими змінами шкірних покривів тварин: розвиток еритеми з ущільненнями, у деяких тварин — з геморагічними шкірками. Розвиток запальної реакції в групах тварин, яким наносили присипку “Пропоцид” і присипку Луганського ХФЗ відзначали аж до 7-го дня лікування. Починаючи з 9-го дня лікування, реєстрували достовірне зменшення товщини шкірної складки і видимих змін шкірних

покривів у порівнянні з групою контрольної патології, запалення в якій залишалося на колишньому рівні. Нанесення експериментальним тваринам присипки “Пропоцид” протягом 11-ти днів приводило до зменшення запальної шкірної реакції та відновлення попередньої товщини шкірної складки. Таким чином, результати досліджень показали, що присипка “Пропоцид” виявляє виражену протизапальну дію на моделі алергійного контактного дерматиту, викликаного фенілгідразинном.

З огляду на літературні дані про репаративну та антисептичну дію настойки та екстрактивних речовин прополісу, що входять до складу даного препарату, нашою метою було вивчити вплив присипки “Пропоцид” на перебіг запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів, викликаного кислотою оцтовою, яке моделювали підшкірним уведенням 0,5 Моль 9% розчину оцтової кислоти, одночасно з внутрішньоочеревинною ін’єкцією декстрану в дозі 300 мг/кг для підвищення реактивності організму тварини [8]. Лікування починали на восьму добу, коли сформувалися шкірні виразки. Всі тварини були розподілені на 3 групи: першій наносили присипку “Пропоцид”, тварини другої отримували лікування препаратом порівняння “Дитячою присипкою” (Луганського ХФЗ), третя — група контрольної патології: по 6 тварин у кожній групі з масою тіла 200-240 г. Площу шкірних виразок вимірювали через день, прикладаючи до рани прозорий трафарет і обводячи краї рани. Швидкість загоєння ран розраховували за формулою:

$$V = \frac{S_{\max} - S_{\text{дослідн.}}}{S_{\text{дослідн.}}}$$

де: S_{max} — максимальна площа рани (у нашому досліді — на 8-й день); S_{дослідн.} — площа рани у день вимірювання, мм².

Таблиця 2

Дані вивчення впливу присипки з настойкою прополісу на розвиток дерматиту, викликаного фенілгідразинном

Період спостережень	Контрольна патологія		Присипка “Пропоцид”		Присипка Луганського ХФЗ	
	вираженість місцевої реакції, бали	товщина шкірної складки, мм	вираженість місцевої реакції, бали	товщина шкірної складки, мм	вираженість місцевої реакції, бали	товщина шкірної складки, мм
Вихідні дані		2,06±0,09		1,86±0,13		1,88±0,08
1-й день лікування	1,80±0,20	3,06±0,21*	1,70±0,20	2,40±0,08*	1,70±0,22	2,46±0,22*
3-й день лікування	2,10±0,19	3,08±0,26*	1,60±0,33	2,54±0,05*	1,90±0,19	2,70±0,14*
7-й день лікування	3,00±0,33	3,84±0,25*	1,60±0,37	2,48±0,42*	1,60±0,29**	2,90±0,11*/**
9-й день лікування	2,60±0,24	3,00±0,45*	1,40±0,24**	2,34±0,09*/**	1,50±0,27**	2,46±0,20*/**
11-й день лікування	1,80±0,30	2,70±0,15*	0,30±0,12**	2,04±0,12**	0,40±0,19**	2,20±0,13**

Примітка:

* — відхилення достовірне по відношенню до препарату порівняння, P<0,05;

** — відхилення достовірне по відношенню до контрольної патології, P<0,05.

Таблиця 3

Вивчення репаративної активності присипки “Пропоцид”, (n=6)

Дні спостережень	Показники	Контрольна патологія	Присипка “Пропоцид”	Присипка Луганського ХФЗ
1-й день	Площа ран, S мм ²	315,17±26,77	232,67±14,97	194,50±5,33
3-й	Площа ран, S мм ²	214,17±33,45	121,5±10,33	127,67±12,69
	Швидкість загоєння, V	0,57±0,17	0,98±0,20	0,58±0,12
5-й	Площа ран, S мм ²	163,00±37,46	71,67±9,54	117,17±23,10
	Швидкість загоєння, V	1,69±0,76	2,63±0,59*/**	1,18±0,37
8-й	Площа ран, S мм ²	118,83±31,47	26,83±5,41*/**	72,5±13,42
	Швидкість загоєння, V	3,36±1,58	9,38±2,19*/**	2,41±0,90
10-й	Площа ран, S мм ²	105,80±28,54	21,33±4,33*/**	60,17±13,55
	Швидкість загоєння, V	3,97±1,70	12,89±3,14*/**	3,41±1,14
12-й	Площа ран, S мм ²	97,00±27,47	14,00±2,79*/**	51,33±12,42
	Швидкість загоєння, V	5,45±2,78	19,24±3,89*/**	4,12±1,24
15-й	Площа ран, S мм ²	83,67±21,47	7,17±1,99*/**	36,33±11,77
	Швидкість загоєння, V	6,07±2,95	53,07±18,37*/**	13,85
7-й день	Площа ран, S мм ²	65,00±14,41	3,67±1,76*/**	25,83±9,53
	% тварин з зарубцьованими ранами	—	50	—
20-й день	Площа ран, S мм ²	36,17±12,25	0,0±0,0	11,33±4,88
	% тварин з зарубцьованими ранами	16,7	100	33,3

У результаті експерименту було встановлено, що швидкість загоєння ран вже на 5-й день нанесення присипки “Пропоцид” була значно вищою від показників групи контрольної патології і препарату порівняння. До кінця експерименту (17-й день лікування) у 50% шурів, які отримували лікування присипкою “Пропоцид”, рани зарубцьовалися, тоді як у групі тварин, яким наносили “Дитячу присипку” (Луганського ХФЗ), таких тварин не було. У контрольній групі рубцювання ран на цей день також не спостерігали. На 20-й день досліджу у тварин, які одержували лікування присипкою “Пропоцид”, всі рани зарубцьовалися (100%), у групі тварин, що одержували препарат порівняння, та у групі контрольної патології загоєння ран спостерігали лише у 33,3% тварин (табл. 3).

Таким чином, встановлено, що присипка “Пропоцид” виявляє виражену протизапальну та репаративну дію.

Для виявлення можливих сенсibilізуючих властивостей присипки “Пропоцид” при зовнішньому застосуванні був проведений експеримент на 12 морських свинках світлої масті, що складала дві піддослідні групи. Тваринам дослідної групи наносили присипку “Пропоцид” у вигляді мазі на вазеліновій основі на вистрижену бічну ділянку

шкіри площею 4×4 см². Тваринам контрольної групи наносили основу без вмісту присипки. Після 10 і 15 аплікацій (по 5 аплікацій на тиждень) на протилежну ділянку інтактної та скарифікованої ділянки шкіри наносили дозу препарату на тій же основі, відзначали стан шкіри в першу годину та через 24 год. Результати дослідження виражали в балах: 1 бал — крапкова слабка гіперемія; 2 бали — крапкова виражена гіперемія; 3 бали — суцільна помірна гіперемія; 4 бали — суцільна виражена гіперемія та інфільтрація. Оскільки алергічна реакція, крім гіперемії в місці нанесення досліджуваної речовини, характеризується також набряком, додатково визначали товщину шкірної складки і кількість лейкоцитів, що циркулюють у периферичній крові до та після нанесення препарату, після 10 та 15 аплікацій (на 14-й та 21-й дні експерименту). Протягом експерименту спостерігали за масою тварин та за станом шкірних покривів у місці нанесення присипки. Через два тижні сенсibilізації всі показники у тварин дослідної групи відповідали показникам у контрольній групі.

Через відсутність сенсibilізуючих властивостей і місцевоподразнюючої дії присипки “Пропоцид” продовжили нанесення аплікацій до 21-го дня

Таблиця 4

Вираженість шкірних проб у морських свинок при вивченні алергізуючої дії присипки “Пропоцид” (n=6)

Термін застосування препарату	Метод тестування	Групи тварин			
		контрольна		дослідна	
		A/n	Б	A/n	Б
14-й день	На інтактну шкіру	0/6	0	0/6	0
	На скарифіковану шкіру	0/6	0	0/6	0
21-й день	На інтактну шкіру	0/6	0	0/6	0
	На скарифіковану шкіру	0/6	0	0/6	0

Примітка: А — кількість тварин з позитивною реакцією; Б — інтенсивність реакції в балах; n — кількість тварин у групі.

Таблиця 5

Показники алергійної реакції (n=6)

Групи тварин	Термін спостережень	Товщина шкірної складки, мм	Число лейкоцитів, 10 ⁹ /л
Присипка “Пропоцид”	Вихідні дані	1,48±0,11	8,41±0,41
	20-й день дослідю	1,60±0,06	8,38±0,65
Контрольна група	Вихідні дані	1,52±0,11	8,10±1,39
	20-й день дослідю	1,48±0,09	7,63±1,29

Примітка: * — відхилення достовірне стосовно показників контрольної патології, P<0,05.

експерименту. Щоденні аплікації присипки “Пропоцид” протягом 3-х тижнів (всього 15 аплікацій) не змінювали загального стану тварин. З боку шкірних покривів будь-яких видимих змін у вигляді гіперемії, інфільтрації не спостерігали, що свідчить про відсутність місцевопоздражуючої дії присипки “Пропоцид”. Нанесення препарату на 21-й день сенсibiliзації на інтактну і скарифіковану шкіру не викликало гіперемії в жодній з тварин (табл. 4).

Товщина шкірної складки, кількість лейкоцитів у периферичній крові практично не змінювалися (табл. 5).

Таким чином, проведені експерименти дозволили встановити, що присипка “Пропоцид” не виявляє алергізуючої дії і місцевопоздражуючого впливу на шкіру піддослідних тварин.

ВИСНОВКИ

1. Проведені фармакологічні дослідження показали високу біологічну активність присипки “Пропоцид” при місцевому застосуванні.

2. За даними досліджень гострої та хронічної токсичності при нашкірному нанесенні та внутрішньошлунковому введенні у дослідях на лабораторних щурах встановлено, що препарат є малотоксичним і відноситься до класу нешкідливих речовин.

3. За результатами проведених досліджень встановлено, що присипка “Пропоцид” виявляє протизапальну активність на моделі алергійного дерматиту у морських свинок, виявляє виражену репаративну активність на моделі асептичного запалення шкіри у щурів поряд з відсутністю сенсibiliзуючих властивостей та місцевопоздражуючої дії.

4. Таким чином, розроблений препарат може бути запропонований до проведення клінічних досліджень з метою впровадження його у практику для застосування у комплексному лікуванні запальних захворювань шкіри, дерматитів, опрілостей, запалень шкірних складок з наявністю мацерацій та лікування важкозагоєваних ран.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
2. Короткий Н.Г., Таганов А.В. Атопический дерматит у детей: принципы наружной терапии. Пособие для педиатра. Серия: аллергические болезни. — М.: Крон-пресс, 2000. — С. 71-83.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. — М.: ООО “Изд-во Новая Волна”, 2007. — 1200 с.
4. Фицпатрик Т. Дерматология: Атлас-справочник / Пер. с англ. — М.: Практика, Мак-Грау-Хилл, 2001. — С. 62-67.
5. Хисматуллина Н.Н. Апитерапия. — Пермь: Мобиле, 2005. — 296 с.

6. Braun-Falko O., Plewig G., Wolf H.H., Burgdorf W.N. *Topical therapy. Dermatology. 2-nd Ed.* — Berlin: Springer, 2000. — P. 1720-1745.
7. De Polo K.F. *A short textbook of cosmetology.* — Verlag fur chemische Industrie: H. Zioldowsky GmbH, 2001. — P. 43-44.
8. Gupta A.K., Baran R. // *J. of the American Academy of Dermatol.* — 2000. — Vol. 43, №4. — P. 95-100.
9. Kligman A.M. // *Dermatol. Clin.* — 2003. — Vol. 18 (4). — P. 62-72.
10. Pandya A.G., Guevara I.L. // *Dermatol. Clin.* — 2005. — Vol. 18 (1). — P. 91-98.
11. Winter R., Rein E., Kharazami A. // *Inflamma-pharmacology.* — 1999. — №7. — P. 63-68.

УДК 615.015.11:167.2:638.1:615.453.2:615.262.1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИСЫПКИ “ПРОПОЦИД”

О.Е.Макарова, С.А.Тихонова, А.И.Тихонов, Л.В.Яковлева
Представлены результаты биологических исследований с целью создания нового дерматологического средства на основе продуктов пчеловодства и стрептоцида. На основании проведенных биологических исследований присыпки “Пропоцид”, в состав которой в качестве действующих веществ входят экстрактивные вещества настойки прополиса и стрептоцид, установлено противовоспалительное и репаративное действие препарата наряду с отсутствием аллергического и местнораздражающего воздействия при нахождении на коже.

UDC 615.015.11:167.2:638.1:615.453.2:615.262.1

THE BIOLOGICAL RESEARCH OF PROPOCID POWDER

O.Ye.Makarova, S.A.Tikhonova, A.I.Tikhonov, L.V.Yakovleva
The results of the biological research with the purpose of creating a new dermatological medicine based on apiculture products and streptocid have been presented. On the basis of the biological study of Propocid powder performed the anti-inflammatory and reparative action of it has been found because of the extractive substances of the propolis tincture and streptocid as active substances in the composition of the powder, as well as the absence of the allergic and local irritative action when applied on the skin.