

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ
ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ФГПП ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЙ
З КИСЛОТОЮ АЗЕЛАЇНОВОЮ ТА БЕНЗОЇЛУ ПЕРОКСИДОМ**

Ключові слова: захворювання шкіри, вугрова хвороба, прополіс, гель, кислота азелаїнова, антимікробна активність

Фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП) являє собою стандартизовану субстанцію природного походження – порошкоподібну масу світло-коричневого кольору, яку добувають за оригінальною технологією з продукту життєдіяльності бджіл – прополісу [1]. Йому притаманні антимікробні (стосовно грампозитивних бактерій), протизапальні, протизудні та аналгезуючі властивості (знижує відчуття болю на уражених ділянках тканини), сприяння росту грануляцій, прискорення процесів регенерації та епітелізації ранової поверхні, стимулювання метаболічних процесів. Він ефективний як на ранній стадії лікування, так і у разі розвинутого некротичного процесу [2].

Дані літератури свідчать, що відносно висока бактерицидна активність ФГПП зумовлена наявністю поліфенолів, а саме катехинів, флавонів, флавонолів, антоціанів [3]. На його основі розроблено такі лікарські препарати як для зовнішнього так і для внутрішнього застосування:

Пропомізол – водний розчин, що містить 0,3 г ФГПП в аерозольному пакуванні, який проявляє антимікробну, протизапальну та анестезувальну дію та прискорює процес регенерації ушкоджених тканин; мазь Проферон ранозагоювальної, протизапальної та антимікробної дії – рекомендована для лікування глибоких опіків на стадії проліферації; мазь Протриоксид для лікування дерматозів, опіків, тривало незагойних ран; препарат Протримексид з високими протизапальними та антимікробними властивостями для застосування в спортивній медицині; аерозольний препарат Профезоль-плівкоутворюючий з протипроменевою, протизапальною, репаративною, капілярозміцнювальною та анестезувальною дією, який призначають для лікування уражень слизових оболонок порожнин організму променевого генезу, та інші [2]. Однак у джерелах літератури не описано дані відносно лікування вугрового висипу (акне) та застосування лікарських препаратів на основі ФГПП для зазначеної патології.

Оскільки системне лікування акне антибіотиками супроводжується низкою побічних ефектів, в основному перевагу надають місцевому застосуванню протимікробних засобів. Однак у більшості випадків зовнішнє лікування антибіотичними препаратами ефективно лише за неважких патологіях вугрового висипу та в поєднанні з іншими засобами проти акне [4].

У сучасних умовах, у більшості індустріально розвинутих країн першість серед безрецептурних місцевих засобів проти вугрів зайняли препарати бензоїлу пероксиду (БП) – першого науково доведеного ефективного місцевого засобу у вигляді гелю (Оксигель[®], Оху-5[®], Оху-10[®], Угресол[®], Проактив[®] тощо). За деякими даними, після нанесення його на шкіру, БП швидко метаболізується до кислоти бензойної, яка виявляє бактеріостатичну та антимікробну дію. У цьому разі відбувається швидка

деструкція фолікулярної мікробної флори. На відміну від застосування антибіотиків, мікробна флора не набуває стійкості до БП, і його ефективна доза не змінюється впродовж багатьох років застосування. З цього приводу особливо слід зазначити, що БП, який входить до складу розроблюваного гелю, знижує популяцію найбільш етіологічно значимого мікроорганізму у формуванні вугрів – *Propionibacterium acnes* – швидше й інтенсивніше, ніж оральні антибіотики. Окрім того, БП у комбінації з оральними або місцевими антибіотиками зменшує кількість резистентних штамів, стимулює епітелізацію мітоз, після чого виникає акантом та гіперкератоз.

Вивчення впливу БП на комедогенез свідчить, що він зменшує кількість видимих відкритих та закритих комедонів уже протягом перших двох місяців застосування. БП у дозах 2,5–10% призводить до зменшення на 40–50% вмісту в ліпідах епідермісу вільних жирних кислот – одного з факторів, який провокує запалення. Це відбувається завдяки пригніченню гідролізу тригліцеридів *P. acnes* та *St. epidermidis*. На особливу увагу заслуговує той факт, що БП чинить також пряму протизапальну дію. Окрім того, БП виявляє кератолітичну дію, поліпшує оксигенацію тканин, у тому числі й в осередку запалення, що сприяє більш швидкому загоюванню. У джерелах літератури також є відомості про те, що порівняльні дослідження БП з антибіотиками показали, що на фоні монотерапії БП спостерігається більш виражене та швидке зменшення кількості як запальних, так і незапальних елементів, ніж за застосування власне антибіотиків [5]. Однак, комбіноване застосування антибіотиків з БП значно підвищує собівартість препаратів, а також часто супроводжується алергійними реакціями, а наявність у складі лікарських форм відносно великих концентрацій БП зумовлює подразнення шкіри та інші побічні ефекти [6, 7, 8].

Друге місце за ефективністю серед зовнішніх препаратів для лікування вугрового висипу посідає препарат Скинорен® (крем 20%, Schering AG), створений спеціалістами Німеччини на основі його активного компонента – азелаїнової кислоти (син. Азелекс, Фіневін та ін.) [9, 10]. Поряд з вираженими антимікробними властивостями, особливо відносно мікроорганізмів роду *Propionibacterium acnes*, кислота азелаїнова чинить безпосередній вплив на фолікулярний гіперкератоз та зумовлює зниження фракцій вільних жирних кислот у ліпідах епідермісу, а також виявляє пригнічення проліферації кератиноцитів та нормалізує процеси термінального диференціювання епідермісу. Вважають, що позитивний ефект досягається завдяки протизапальній дії власне кислоти азелаїнової. Кислота азелаїнова у разі місцевого застосування проникає всередину глибоких шарів шкіри. Абсорбована частина активного компонента виводиться нирками у нативному вигляді чи у формі метаболітів. Препарат Скинорен® не спричинює розвитку системних небажаних ефектів.

З огляду на вищезазначене, має інтерес створення комбінованих лікарських засобів на основі субстанцій природного походження, зокрема ФГПП, зі зниженим вмістом БП та кислотою азелаїновою, які б забезпечували ефективну фармакологічну дію на належному рівні за мінімізації побічних ефектів.

Метою цієї роботи є експериментальне вивчення протимікробної активності гелю, розробленого на основі ФГПП та його комбінацій з кислотою азелаїновою та бензоїлу пероксидом.

Матеріали та методи дослідження

Нами було обгрунтовано склад нових екстемпоральних композицій у вигляді гелів, що містять основний активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) – ФГПП для лікування вугрового висипу [11]. В цій роботі наведено результати вивчення антимікробної активності опрацьованих лікарських форм традиційним методом

«дифузії в агар» (методом «колодязів»). Метод засновано на здатності активно діючої речовини дифундувати в агар, на який здійснюється висів досліджуваної тест-культури [12, 13].

Вивчення антимікробної активності виконували на кафедрі мікробіології Національного фармацевтичного університету під керівництвом д-ра фарм. наук, проф. Н. І. Філімонової.

Як тест-культури використовували еталонні штами ВООЗ та музейні культури: грамнегативні мікроорганізми – *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853); грампозитивні мікроорганізми – *Staphylococcus aureus* (ATCC-29213), *Streptococcus pyogenes*, *Propionibacterium acnes*; а також дріжджеподібні гриби *Candida albicans* (ATCC 885-653).

Кислоту дипероксіазелаїнову одержували за відомою методикою [15]. Усі зразки препаратів відповідали вимогам чинних фармакопейних статей. В роботі були використані експериментальні зразки гелю такого складу:

тест-зразок № 1 – 2,0%-й розчин ФГПП в пропіленгліколі;

тест-зразок № 2 – 2,0%-й розчин ФГПП в ПЕО-400;

тест-зразок № 3 – 2,0%-й розчин ФГПП в пропіленгліколі і ПЕО-400 (1:1);

тест-зразок № 4 – 2,0%-й розчин ФГПП в пропіленгліколі та азелаїновій кислоті (15%);

тест-зразок № 5 – 2,0%-й розчин ФГПП в ПЕО-400 та бензоїлу пероксиду (2%);

тест-зразок № 6 – 2,0%-й розчин ФГПП в пропіленгліколі та дипероксіазелаїновій кислоті (1%).

У ході експерименту чашки Петрі заливали двома шарами твердого живильного середовища. Нижній шар – 10 мл розтопленого «голодного» агару АГВ (середовище № 3), верхній шар – живильне середовище для відповідного тест-штаму. Після охолодження нижнього шару агару на ньому встановлювали на рівній відстані один від одного та від краю чашки три сталевих тонкостінних циліндри (внутрішній діаметр – $6,0 \pm 0,1$ мм, заввишки – $10,0 \pm 0,1$ мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар – 13,5 мл розтопленого та охолодженого до 45–48 °С агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму (1,5 мл мікробної завісі, тієї концентрації, що відповідала виду мікроорганізму). Після охолодження верхнього шару агару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вміщували 0,25–0,3 мл тест-зразка досліджуваної композиції.

Аналіз результатів здійснювали через 24 год шляхом вимірювання зони пригнічення росту, включаючи діаметр лунок. Вимірювання виконували з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувалися на повну відсутність видимого росту.

Одержані дані аналізували за методами варіаційної статистики. Прийнятий рівень значущості $P \leq 0,05$ [12, 13, 14].

Результати експериментальних даних наведено в таблиці.

Результати дослідження та обговорення

За результатами проведених досліджень встановлено (таблиця), що антимікробну активність відносно грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus*) виявили всі досліджувані тест-зразки (№ № 1–6). При цьому найбільші антистафілококові властивості були притаманні зразкам № 5, № 1 та № 4. Порівняно з цим, найбільш активними відносно мікроорганізмів роду *S. pyogenes* виявилися зразки № 3, № 5 та № 4, а відносно *P. acnes* найбільш суттєво виявили антимікробну активність тест-зразки № 4 та № 5. Також було встановлено помірну фунгістатичну активність тест-зразків № 4, № 5 та № 6.

Характеристика антимікробної активності досліджуваних тест-зразків

Тест-зразок	Зона затримки росту мікроорганізмів, мм					
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>P. aeru-ginosa</i>	<i>P. acnes</i>	<i>C. albicans</i>
№ 1	20,6 ± 3,2	0	10,6 ± 4,2	0	0	0
№ 2	16,4 ± 3,0	0	13,4 ± 4,7	0	0	0
№ 3	16,2 ± 5,1	0	17,0 ± 3,6	0	0	0
№ 4	20,1 ± 6,2	0	15,0 ± 5,1	0	15 ± 2,3	19,7 ± 7,1
№ 5	21,5 ± 3,8	0	16,6 ± 2,4	0	17,3 ± 1,2	20,8 ± 11,0
№ 6	16	0	0	0	0	22,0 ± 7,0

Як впливає з наведених в таблиці даних, найбільш широкий спектр вибірково виражених антибактеріальних властивостей до тест-штамів притаманний тест-зразкам № 4 та № 5.

Узагальнюючи результати дослідження, можна дійти обґрунтованого висновку, що найбільш перспективними для подальших досліджень слід визнати тест-зразки № 4 та № 5. Враховуючи, що тест-зразок № 6 виявляв найбільшу антифунгальну активність, доцільним є подальше проведення мікробіологічних та фармакологічних досліджень.

В и с н о в о к

Здійснено експериментальне вивчення протимікробної активності гелю, розробленого на основі ФГПП та його комбінацій з кислотою азелаїною та бензоїлу пероксидом, встановлено його високу активність.

Наявність виявленої високої антимікробної активності запропонованого гелю на основі ФГПП в комбінації з помірними вмістами бензоїлу пероксиду (2%) та кислоти азелаїною (15%) свідчить про перспективність розроблених лікарських препаратів для подальших розгорнутих фармакологічних досліджень на предмет застосування їх як засобів для лікування вугрового висипу.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП) – РП № UA/4505/01, Наказ МОЗ України № 337 від 07.06.2011 р.
2. Тихонов О. І., Ярних Т. Г., Черних В. П. та ін. Теорія та практика виробництва лікарських препаратів прополісу / За ред. акад. О. І. Тихонова. – Харків: Основа, 1998. – 384 с.
3. Tichonov A. I., Jarnych T. G., Czernych W. P. et al. Teoria i praktyka wytwarzania leczniczych preparatow propolisowych / Pod redakcja akademika A. I. Tichonowa. Redaktor wydania polskiego prof. dr hab. Bogdan Kedzia. – Krakow: Drukarnia «Marka», 2005. – 274 с.
4. Ozolins M., Eady E. A., Avery A. J. et al. Comparison of five antimicrobial regimens for treatment of mild to moderate inflammatory facial acne vulgaris in the community: randomised controlled trial // Lancet. – 2004. – N 364. – P. 2188–2195.
5. Harper J. C. Benzoyl peroxide development, pharmacology, formulation and clinical uses in topical fixed-combinations // J. Drugs Dermatol. – 2010. – V. 9, N 5. – P. 482–487.
6. Segransky M., Yentzer B. A., Feldman S. R. Benzoyl peroxide: a review of its current use in the treatment of acne vulgaris // Expert Opin Pharmacother. – 2009. – V. 10, N 16. – P. 2555–2562.
7. Tanghetti E. A., Popp K. F. A current review of topical benzoyl peroxide: new perspectives on formulation and utilization // Dermatol. Clin. – 2009. – V. 27, N 1. – P. 17–24.
8. Worret W. I., Fluhr J. W. Acne therapy with topical benzoyl peroxide, antibiotics and azelaic acid // J. Dtsch. Dermatol. Ges. – 2006. – V. 4, N 4. – P. 293–300.
9. Fluhr J. W., Degitz K. Antibiotics, azelaic acid and benzoyl peroxide in topical acne therapy // J. Dtsch. Dermatol. Ges. – 2010. – V. 8, Suppl 1. – S. 24–30.
10. Gollnick Harald P. M., Graupe Klaus, Zaumseil Rolf-Peter. Azelaic acid 15 % gel in the treatment of acne vulgaris. Combined results of two double-blind clinical comparative studies // JDDG. – 2004. – V. 2, N 10. – P. 841–847.
11. Бобро С. Г., Тихонов О. І. Обґрунтування вибору основи для приготування гідрофільного гелю з ФГПП // Актуальні питання наукової та практичної косметології 2014: Мат. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (17–18 квітня 2014 р., м. Запоріжжя). – Вид-во ЗДМУ, 2014. – С. 47–48.

12. Метод. рекомендації «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів». – К., 2004. – 38 с.

13. Метод. вказівки МОЗ України «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – К., 2007, № МВ 9.9.5-143-2007.

14. Наказ МОЗ України № 167 від 05. 04. 2007 г. «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів».

15. *Parker W. E., Witnauer L. P., Swern D.* Peroxides IV. Aliphatic Diperoxides. // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1957. – V. 79. – P. 1929–1931.

Надійшла до редакції 22. 07. 2014.

С. Г. Бобро, А. І. Тихонов

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ФГПП И ЕГО КОМБИНАЦИЙ С КИСЛОТОЙ АЗЕЛАИНОВОЙ И БЕНЗОИЛА ПЕРОКСИДОМ

Ключевые слова: заболевания кожи, угревая болезнь, прополис, гель, кислота азелаиновая, антимикробная активность

А Н Н О Т А Ц И Я

Создание комбинированных лекарственных средств для лечения дерматологических заболеваний на основе субстанций природного происхождения, в частности фенольного гидрофобного препарата прополиса с пониженным содержанием бензоила пероксида и кислоты азелаиновой, является весьма актуальным, так как действующие вещества в этой комбинации на должном уровне целенаправленно обеспечивают эффективное фармакологическое действие с минимальными побочными эффектами.

Целью работы было экспериментальное изучение антимикробной активности разрабатываемого лекарственного препарата в форме геля, предназначенного для лечения угревой болезни.

Объектом исследования были модельные образцы новых экстенпоральных композиций мягких лекарственных форм – гелей, содержащих активные фармацевтические ингредиенты – фенольный гидрофобный препарат прополиса, кислоту азелаиновую и бензоила пероксид. В работе использовали традиционный метод «диффузии в агар» (методом «колодцев»).

Полученные результаты показали наличие высокой антимикробной активности исследуемых образцов предложенного геля, содержащих фенольный гидрофобный препарат прополиса в комбинации с умеренным содержанием бензоила пероксида и кислоты азелаиновой, что в свою очередь свидетельствует о перспективности разработанной нами лекарственной формы и целесообразности проведения дальнейших развернутых фармакологических исследований на предмет применения её в качестве препарата для лечения угревой сыпи.

S. G. Bobro, A. I. Tikhonov

National University of Pharmacy, Kharkiv

EXPERIMENTAL STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GEL BASED ON PHDP AND ITS COMBINATIONS WITH AZELAIC ACID AND BENZOYL PEROXIDE

Key word: diseases of the skin, acne, propolis, gel, acid azelaic, antimicrobial activity

А B S T R A C T

The creation of combined medicines for the treatment of dermatological diseases based on the substances of natural origin, in particular phenol-hydrophobic drug propolis with reduced content of benzoyl peroxide and azelaic acid, is highly relevant, as the active substances in this combination provide purposefully effective pharmacological action with minimal side effect sat the appropriate level.

The aim of this work was the experimental study of antimicrobial activity of a medicinal product in the form of a gel intended for the treatment of acne which we are working up.

The object of the study were the model samples of new *ex tempore* compositions of soft medicinal forms – gels containing the active pharmaceutical ingredients – phenol-hydrophobic drug propolis, azelaic acid and benzoyl peroxide. We used the traditional method «diffusion in to agar» («the wells method»).

Електронна адреса для листування з авторами: sveta_bobro@mail.ru