

УДК 615.272.4:615.451.4: 638.135:616-003.9

О.В. ТКАЧОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕПАРАТИВНОЇ ТА МІСЦЕВОАНЕСТЕЗУЮЧОЇ ДІЇ МАЗІ «ПРОЛІДОКСИД»

Вивчена репаративна і місцевоанестезуюча активність комбінованої мазі «Пролідоксид». У ході досліджень доведено, що репаративна активність мазі «Пролідоксид» у 2 рази перевищила активність мазі «Вундехіл». Більш виражена репаративна дія препарату підтверджена вірогідним збільшенням рівня показників загального білка, ДНК і РНК. При вивченні місцевоанестезуючої активності встановлено, що за тривалістю, силою і глибиною анестезії активність мазі «Пролідоксид» вірогідно перевищила активність мазі «Левосин». Отримані результати дозволяють прогнозувати доцільність застосування мазі «Пролідоксид» у лікуванні ран з метою зменшення відчуття болю.

Ключові слова: дослідження; мазь; прополіс; ранозагоювальна дія

ВСТУП

Загоєння ран на гнійно-некротичній фазі супроводжується запаленням, утворенням гнійного ексудату та виразною больовою чутливістю уражених тканин, що потребує поряд з хірургічними методами лікування місцевого застосування мазей, які сприяють очищенню рани від некротичних мас, проявляють антимікробну, знеболювальну, протизапальну дію та створюють оптимальні умови для перебігу репаративних процесів [2]. У період між гнійно-некротичною фазою і фазою грануляції, в одних клітинах проходять репаративні процеси, а в інших продовжується процес запалення з утворенням гнійного ексудату. На цьому етапі мазі повинні поряд з антибактеріальною дією проявляти меншу, ніж на I-й фазі осмотичну дію та виразну репаративну дію, що сприяло б очищенню рани і стимулювало її загоєння.

На теперішній час на фармацевтичному ринку України для місцевої медикаментозної терапії гнійних ран здебільшого представлені мазі (70%), які в основному містять антибактеріальні компоненти синтетичного походження. Головний недолік цих препаратів як лікарських засобів для місцевого лікування ран і опіків пов'язаний з виникненням у процесі лікування резистентності до антибіотиків і появою великої кількості госпітальних штамів бактерій.

В даному аспекті актуальним є створення нових лікарських препаратів на основі субстанцій природного походження, що чинять достатню антимікробну і протизапальну дію та мають високий показник безпечності.

Значний інтерес для практичної медицини представляють препарати на основі продуктів бджільництва, зокрема прополісу. Це пов'язано з високою терапевтичною активністю прополісу, що практично не проявляє побічної дії, має широкий спектр антимікробної активності і не викликає появи стійких штамів мікроорганізмів. Вітчизняною промисловістю випускається фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП), який містить значну кількість фенольних сполук (близько 80%) і має високу антимікробну, протизапальну та репаративну активність. Широкий спектр фармакологічної дії ФГПП та недостатня кількість вітчизняних комбінованих препаратів, що проявляють різноспрямовану лікувальну дію на рановий процес, стали передумовою для розробки вченими НФаУ мазі «Пролідоксид», яка що містить два діючі компоненти: ФГПП (5%) і лідокаїн (5%). Метою даної роботи стало дослідження репаративної та місцевоанестезуючої дії мазі «Пролідоксид».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Репаративну дію мазі «Пролідоксид» вивчали на моделі лінійної різаної рани, яку відтворювали в асептичних умовах [5] на 18 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях з масою

тіла 170-220 г. Тваринам під барбаміловим наркозом (0,8 мл 1% водного розчину барбамілу на 100 г маси тварини) на попередньо депільованій міжлопатковій ділянці ножицями робили розтин довжиною 5,0 см. На відстані 1,0 см один від одного накладали вузлуваті шви та обробляли розрізану та ушиту рану 5% розчином йоду. Тварин розділили на три групи по 6 тварин: перша – позитивний контроль (ПК), тобто неліковані тварини з відтвореною патологією; друга група – тварини, у яких на тлі патології застосовували мазь «Пролідоксид». Тварин 3-ї групи лікували маззю «Вундехіл», що є аналогом за лікарською формою, фармакологічною дією і показаннями до застосування. Лікування розпочинали через 24 години після моделювання рани і впродовж наступних 5 днів. Мазі наносили на поверхню різаної рани в умовно-терапевтичній дозі 20 мг/см², яка повністю всмоктується в шкіру та достатньо її зволожує. На ранотензіометрі проводили випробування міцності рубця. Для цього один край шва закріплювали в стаціонарному затискувачі, а другий – у затискувачі з вантажем. Рівномірно підвищуючи навантаження, відзначали масу, при якій шов розходився. Міцність рубця в дослідній та контрольній групах відповідала масі, необхідній для розриву рубця. Репаративну активність розраховували за формулою (1):

$$PA = \frac{(DM_d - DM_k) \times 100\%}{DM_k}, \quad (1)$$

де: PA – репаративна активність;

M_d – навантаження, при якому розходився шов у щурів дослідної групи, г;

M_k – навантаження, при якому розходився шов у щурів групи ПК, г.

Через те, що одним із визначальних факторів швидкості репаративної регенерації є білковий обмін, було проведено визначення вмісту загального білка в сироватці крові за біуретовою реакцією [3] і концентрації РНК та ДНК в гомогенаті шкіри щурів спектрофотометричним методом за реакцією з хлорною кислотою (Спирін А.С., 1958). Отримані результати порівнювали з групою інтактного контролю (n=6). Визначення нуклеїнових кислот у гомогенаті шкірних ран обумовлено тим, що препарати для місцевого лікування ран виявляють лікувальну дію перш за все на місці ушкодження за рахунок стимуляції регенеративних процесів.

Місцевоанестезуючу дію мазі «Пролідоксид» та препарату порівняння вивчали на 12 кролях за методом Реньє, який базується на визначенні чутливості рогівки ока кроля до дії механічного

подразника [6]. Як препарат порівняння використовували аналог за лікарською формою, фармакологічною дією та показаннями до застосування – мазь «Левосин». До складу комбінованої мазі «Левосин» входить місцевий анестетик тримекаїн, до того ж мазь «Левосин», як і досліджуваний препарат, має поліетиленоксидну основу, виявляє антимікробну, протизапальну, репаративну і знеболюючу дію та використовується для місцевого лікування гнійно-запальних процесів шкіри.

Перед дослідом кроликам підстригали вії і перевіряли роговичний рефлекс, потім в кон'юнктивальний мішок ока тварин за допомогою шприца (без голки) вводили по 0,1 г мазі і каліброваним волоском подразнювали роговицю ока з частотою 100 разів/хв починаючи з 8-ї хвилини. Про місцевоанестезуючу дію судили за показниками: час настання, загальна тривалість та глибина анестезії. Глибину і силу анестезії оцінювали за індексом Реньє (повної тривалості анестезії рогівки ока). Індекс Реньє розраховували шляхом підсумовування кількості подразнень на око кролика при 13 вимірах (на 8, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 15, 50, 55 і 60 хвилинах), проведених протягом години. Відсутність роговичного рефлексу при сотому дотику умовно приймали за повну анестезію.

Отримані результати досліджень обробляли статистично, використовуючи критерій Ньюмена-Кейлса і стандартний пакет статистичних програм Statistica 4,3. При застосуванні методів математичної статистики був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення репаративної дії мазей показали, що за показником міцності рубця всі досліджувані препарати вірогідно перевищили позитивний контроль (табл. 1).

Загоєння ран на цій моделі відбувалося досить швидко шляхом первинного натягування. Оскільки краї лінійної рани зближені один до одного, то на 6-й день досліді рани у тварин були епітелізовані та зарубцьовані. Мазь «Вундехіл» за показником тензіометрії (668,33±24,83) вірогідно поступалася мазі «Пролідоксид» та в 2 рази поступалася за репаративною активністю.

Результати дослідження білкового обміну показали здатність препаратів активізувати репаративні процеси на внутрішньоклітинному рівні, що підтвердилося вірогідним підвищенням показників загального білка порівняно з тваринами групи ПК та вірогідним збільшенням рівня РНК порівняно з даними інтактного контролю.

**РЕПАРАТИВНА АКТИВНІСТЬ МАЗЕЙ
В ДОЗАХ 20 МГ/СМ² НА МОДЕЛІ ЛІНІЙНОЇ РІЗАНОЇ РАНИ У ЩУРІВ, ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$), N=6**

Групи тварин	Показник тензіометрії, г	РА, %	Загальний білок у сироватці крові, г/л	ДНК у гомогенаті шкірної рани, мкг/мл	РНК у гомогенаті шкірної рани, мкг/мл
Інтактний контроль	–	–	70,85±2,25	21,69±1,55	28,77±2,80
Позитивний контроль	471,67±38,69	–	60,44±3,14*	17,27±3,01*	34,31±1,29*
Мазь «Пролідоксид»	873,33±28,05 **/**	85	73,97±3,92**	26,68±5,23*/**/**	42,50±3,51 */**/**
Мазь «Вундехіл»	668,33±24,83**	42	70,35±5,32**	19,85±1,82	36,71±1,34*

Примітки: 1. * – відмінності вірогідні щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;

2. ** – відмінності вірогідні щодо позитивного контролю, $p < 0,05$;

3. *** – відмінності вірогідні щодо мазі «Вундехіл», $p < 0,05$.

Мазь «Пролідоксид» порівняно з маззю «Вундехіл» виявила більш активний вплив на репаративні процеси, про що свідчило вірогідне збільшення рівнів РНК і ДНК по відношенню до інтактного і позитивного контролю та до показників препарату порівняння. Репаративну активність мазі «Пролідоксид», насамперед, забезпечили фенольні сполуки (флавоної – апігенін, лютеолін і флаванолі – кверцетин, кемферол), які беруть участь у різноманітних метаболічних процесах, стимулюють синтез білка, покращують місцеве кровопостачання. Поліфенолі – виражені антиоксиданти [8, 10], здатні перехоплювати вільні радикали [9, 12, 14], утворювати хелато-комплекси з реакційно здатними іонами, гальмувати активність радикалгенеруючих ферментів і, таким чином, захищати ліпіди, нуклеїнові кислоти та інші складові клітин від окиснення і руйнування [7]. Фенольні сполуки стимулюють репаративні процеси, впливаючи в основному на макрофагальну ланку запально-репаративної реакції [1]. При цьому посилюється хемотаксис у рану макрофагів, проліферація і диференціювання фібробластів, відновлюються порушені міжклітинні утворення, що впливає на прискорення епітелізації тканин.

Результати дослідження місцевоанестезуючої дії мазі «Пролідоксид» на слизову оболонку ока кролів представлені в табл. 2. Згідно з отриманими результатами місцевоанестезуюча дія під впливом обох препаратів наступала майже одночасно між 9 та 10 хвилинами. Але втрата чутливості при введенні мазі «Пролідоксид» була в 2,5 рази вище, ніж при введенні мазі «Левосин». Високі значення індексу Реньє, тривалість повної і загальної анестезії для досліджуваної мазі свідчать не тільки про синергізм дії анестетика лідокаїну і ФГПП в мазі «Пролідоксид», а й про пролонгування анестезуючого

ефекту. Більш тривалий ефект досліджуваної мазі в порівнянні з маззю «Левосин», ймовірно, обумовлений більшим вмістом у ній анестетика лідокаїну (5% у мазі «Пролідоксид» проти 3% тримекаїну в мазі «Левосин»), а також знеболюючим впливом ФГПП, що за даними різних дослідників проявляє анальгезуючу дію на слизові оболонки і шкіру, знижує біль у вражених тканинах [4, 11, 13].

Таблиця 2

**ВПЛИВ МАЗЕЙ «ПРОЛІДОКСИД»
І «ЛЕВОСИН» У ДОЗАХ 20 МГ/СМ²
НА МІСЦЕВОАНЕСТЕЗУЮЧУ
ДІЮ У КРОЛІВ, ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$), N=6**

Препарати	Час настання анестезії, хв	Тривалість анестезії, хв	Глибина анестезії (індекс Реньє)
Мазь «Пролідоксид»	9,68±0,24	40,3±1,9*	721,67±27,87*
Мазь «Левосин»	9,94±0,49	16,0±1,9	461,67±24,83

Примітка: * – відмінності вірогідні щодо препарату порівняння мазі «Левосин», $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ

1. На моделі лінійної різаної рани репаративна активність мазі «Пролідоксид» у 2 рази перевищила активність препарату порівняння мазі «Вундехіл». Більший стимулювальний вплив мазі «Пролідоксид» підтвердився вірогідним щодо групи позитивного контролю збільшенням рівнів загального білка, ДНК і РНК, а також збільшенням рівня РНК і ДНК по відношенню до показників мазі «Вундехіл».

2. Місцевоанестезуюча дія мазі «Пролідоксид» за тривалістю, силою та глибиною вірогідно перевищила дію препарату порівняння – мазі «Левосин».

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Берченко Г.Н. Роль макрофагов в процесі заживлення ран // В кн.: Теоретические вопросы травматологии и ортопедии. – М., 1990. – С. 19-32.
2. Бутко Я.О. Вивчення місцевоанестезуючої та місцевоподразнюючої дії нової комбінованої мазі з амікацином для лікування ран / Я.О.Бутко // Укр. біофармац. журн. – 2009. – Т. 1, №2. – С. 15-17.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Мн: Беларусь, 1982. – 366 с.
4. Котелевць Н.В. Експериментальне обґрунтування клінічного застосування нового препарату – «Феполен» на основі продуктів бджільництва, призначеного для лікування простатитів: автореф. дис. ... канд. біол. наук, 14.03.05 – Х., 2006. – 18 с.
5. Турицев С.Н. Методические подходы к изучению фармакологической регуляции процессов регенерации в эксперименте / С.Н.Турицев // Фармаком. – 1996. – № 4-5. – С. 25-36.
6. Экспериментальное (доклиническое) изучение новых местноанестезирующих средств: [метод. рекоменд.] / Под ред. В.И.Мамчура. – К., 2003. – 48 с.
7. Aitken R.J. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome / R.J. Aitken, Cs. Krausz // Reproduction. – 2001. – Vol.122, №4. – P. 497–506.
8. Cano A. Superoxide scavenging by polyphenols: effect of conjugation and dimerization / A. Cano, M.B. Arnao, G. Williamson, M.T. Garcia-Conesa // Redox Rep. – 2002. – №7. – P. 379-383.
9. Choi Y.M. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea / Y.M. Choi, D.O. Noh, S.Y. Cho, H.J. Suh, // LWT - Food Sci. and Technol. – 2006. – Vol. 39, Issue 7. – P. 756-761.
10. Gabrielska J. Antioxidative effect of kaempferol and its equimolar mixture with phenyltin compounds on UV-irradiated liposome membranes / J. Gabrielska, M. Soczyńska-Kordala, S. Przystalski // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53, №1. – P. 76-83.
11. Havsteen B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids / B.H.Havsteen // Pharmacol. and Therapeutics. – 2002. – Vol. 96. №2-3. – P. 67-202.
12. Isla M.I. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts / [M.I. Isla, M.I. Nieva Moreno, A.R. Sampietro et al.] // J. of Ethnopharmacol. – 2001. – Vol. 76, Issue 2. – P. 165-170.
13. Paulino N. Bulgarian propolis induces analgesic and anti-inflammatory effects in mice and inhibits in vitro contraction of airway smooth muscle / [N.Paulino, A.P.Dantas, V.Bankova, D.T.Longhi et al.] // J. Pharmacol. Sci. – 2003. – Vol. 93, №3. – P. 307-313.
14. Teixeira S. Structure-property studies on the antioxidant activity of flavonoids present in diet / [S. Teixeira, C. Siquet, C. Alves, I. Boal et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2005. – Vol. 39, №8. – P.1099-1108.

УДК 615.272.4:615.451.4: 638.135:616-003.9

О.В. Ткачева

**ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПАРАТИВНОГО И МЕСТНОАНЕСТЕЗИРУЮЩЕГО
ДЕЙСТВИЯ МАЗИ «ПРОЛИДОКСИД»**

Изучена репаративная и местноанестезирующая активность комбинированной мази «Пролидоксид». В ходе исследований доказано, что репаративная активность мази «Пролидоксид» в 2 раза превысила активность мази «Вундехил». Более выраженное репаративное действие препарата подтверждено достоверным увеличением уровня показателей общего белка, ДНК и РНК.

При изучении местноанестезирующей активности установлено, что по продолжительности, силе и глубине анестезии активность мази «Пролидоксид» достоверно превысила активность мази «Левосин». Полученные результаты позволяют прогнозировать целесообразность применения мази «Пролидоксид» в лечении ран с целью уменьшения ощущения боли.

Ключевые слова: исследование; мазь; прополис; репаративное действие

UDC 615.272.4:615.451.4: 638.135:616-003.9

O.V. Tkachova

**RESEARCH OF REPARATIVE AND OF TOPICAL ANESTHESIA
EFFECT OF OINTMENT «PROLIDOXYD»**

Reparative and topical anesthesia activity of combined ointment «Prolidoxyd» has been studied. Research proved that the reparative activity of ointment «Prolidoxyd» is to 2 times higher than the activity of the ointment “Wundahyl”. A more stronger reparative effect of the drug is confirmed by significant increase of the level of total protein, ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid.

During research of local anesthetic activity it has been revealed that the duration, strength and depth of anesthesia activity of the ointment «Prolidoxyd» significantly exceeded the activity of the ointment «Levosin». The results obtained allow to predict the feasibility of use of the ointment “Prolidoxyd” in the treatment of wounds with the aim of reduction sensation of pain.

Key words: study; ointment; propolis; reparative actions

Адреса для листування:
61022, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Кафедра фармакоекономіки НФАУ.
Тел. (057) 752-03-47.
E-mail:tkachova@gmail.com

Надійшла до редакції:
19.12.2011