

## РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И АНАЛИЗА СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ МАЗИ С ПОЛИФЕНОЛЬНЫМ КОМПЛЕКСОМ ТРАВЫ ХРИЗАНТЕМЫ КОРЕЙСКОЙ

Савченко Л.Н.<sup>1</sup>, Маринина Т.Ф.<sup>1</sup>, Карпенко В.А.<sup>1</sup>, Саушкина А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск, Россия (357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: f-akademiya@mail.ru ,

<sup>2</sup> Военно-Медицинская Академия им. С.М.Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия (194044, г. Санкт-Петербург, Выборгский район, ул. Академика Лебедева, 6)

Изучен состав биологически активных веществ травы хризантемы корейской. Установлено наличие значительных количеств дубильных веществ, флавоноидов, хлорофиллов. Высокое содержание дубильных веществ определило бактерицидное действие водных извлечений из травы хризантемы корейской для лечения заболеваний полости рта, Разработана технологическая схема получения полифенольного комплекса, в основе которой лежит экстракция дубильных веществ 40% этиловым спиртом методом дробной мацерации. На основании проведенных биофармацевтических и микробиологических исследований разработан состав и технология стоматологической мази с полифенольным комплексом на гидрофильной основе. Результаты микробиологических исследований показали активность мази в отношении грамположительной микрофлоры и грамотрицательных энтеробактерий. Изучены основные показатели качества мази в соответствии с требованиями нормативной документации, установлено, что предлагаемая мазь обладает агрегативной стабильностью. Предложены методики качественного и количественного анализа дубильных веществ в полифенольном комплексе и мази.

Ключевые слова: трава хризантемы корейской, дубильные вещества, мазь.

## DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY AND ANALYSIS OF DENTAL OINTMENT WITH POLYPHENOLIC COMPLEX HERBS KOREAN CHRYSANTHEMUMS

Savchenko L. N.<sup>1</sup>, Marinina T. F.<sup>1</sup>, Karpenko V. A.<sup>1</sup>, Saushkin A. S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pyatigorsk medical and pharmaceutical Institute (branch) of Volgograd state medical University, Pyatigorsk, Russia (357532, Pyatigorsk, D. Kalinin, 11), e-mail: f-akademiya@mail.ru

<sup>2</sup>Military Medical Academy. S. M. Kirov, St. Petersburg, Russia, 194044, Saint-Petersburg, Vyborg district, str. Akademika Lebedeva, 6)

The composition of biologically active substances herbs Korean chrysanthemums. The presence of significant amounts of tannins, flavonoids, chlorophyll. The high content of tannins was determined the bactericidal activity of water extracts from herbs Korean chrysanthemums for the treatment of diseases of the oral cavity Developed by the flowchart of polyphenolic complex, which is based on the extraction of tannins 40% ethyl alcohol by the method of fractional maceration. Based on biopharmaceutical and microbiological studies developed the composition and technology of dental ointment with polyphenolic complex on a hydrophilic base. The results of microbiological studies showed activity ointment against gram-positive organisms and gram-negative enterobacteria. We studied the basic indicators of the quality of ointments in accordance with the requirements of normative documents, it is established that the proposed ointment has aggregate stability. The proposed methodology qualitative and quantitative analysis of tannins in polyphenolic complex and ointments.

Keywords: grass Korean chrysanthemums, tannins, ointment.

Значительная распространённость стоматологической патологии среди населения диктует необходимость поиска новых эффективных лекарственных средств, применяемых в терапии заболеваний полости рта. Среди них заслуживают внимания лекарственные средства, полученные из растений.

Выбранный нами объект – хризантема корейская распространена на Северном Кавказе в качестве декоративной культуры. Водные настои из этого растения издавна использовались для полосканий полости рта и лечения других заболеваний. Именно дубильные вещества при

отсутствии токсического эффекта обладают рядом важных фармакологических свойств: вяжущим, бактерицидным, бактериостатическим [1,3].

**Целью** настоящей работы явилось изучение полифенольного комплекса травы хризантемы корейской и получение на его основе стоматологической мази (СМ) для лечения заболеваний пародонта.

**Материалы и методы.** Изучение химического состава травы хризантемы показало наличие в ней дубильных веществ, стероидов, сапонинов, флавоноидов, кумаринов, свободных моносахаров, хлорофилла, гидроксикоричных кислот и др.

По количественному содержанию наибольший интерес представляли сумма флавоноидов (в пересчёте на лютеолин-7-гликозид) – около 2,5%, сумма хлорофиллов – около 15,9 мг% и дубильные вещества – около 11%.

Высокое содержание дубильных веществ в траве хризантемы корейской позволило получить полифенольный фитокомплекс, технология которого включала три основные стадии: получение извлечения, очистка извлечения, сгущение и сушка.

Для выбора оптимального экстрагента проводили исчерпывающее экстрагирование дубильных веществ, используя точные навески сырья массой около 2,0 г. Количественное определение проводили перманганатометрически. Установлено, что наибольшее количество дубильных веществ извлекается 40% этиловым спиртом (табл. 1).

**Таблица 1**

Результаты определения суммы дубильных веществ травы хризантемы корейской

Экстрагент	Метрологические характеристики					
	$\bar{X}$	S	$S_{\bar{X}}$	$\Delta X$	$\epsilon$	$\bar{X} \pm \Delta X$ %
Вода очищенная	6,55	0,065	0,026	0,068	1,04	6,55±0,068
Спирт этиловый, 96%	3,74	0,058	0,024	0,061	1,63	3,74±0,061
Спирт этиловый, 70%	9,93	0,072	0,030	0,076	0,76	9,93±0,076
Спирт этиловый, 40%	10,89	0,21	0,084	0,22	1,98	10,89±0,22

Извлечение дубильных веществ из сырья проводили 40% этиловым спиртом методом дробной мацерации. Навеску сырья измельчённого до размера частиц не более 3 мм заливали пятикратным объёмом 40% этилового спирта и настаивали в течение 12 часов при периодическом перемешивании и нагревании до температуры 50-60 °С, что улучшало растворимость полифенолов. Вторую экстракцию проводили трёхкратным объёмом экстрагента. Полученные извлечения объединяли и очищали от белков, пектинов и полисахаридов, нагревая до 100 °С в течение 10 минут с последующим фильтрованием. Очищенное извлечение упаривали под вакуумом при температуре 50-60 °С и разрежении

600-650 мм до надлежащей густоты, сушку проводили в вакуум сушильном шкафу при температуре 50-60 °С.

Полученный фитокомплекс, представлял собой пористую массу бурого цвета со специфическим запахом, медленно растворимую в горячей воде, легко – в спирте. Содержание влаги составило 8,5%, дубильных веществ 20,3% в пересчёте на танин.

Терапевтическая эффективность мазей в значительной мере зависит от композиционного состава основообразующих веществ [2]. Необходимо отметить, что дубильные вещества несовместимы с целым рядом мазевых основ. Нами были выбраны наиболее стабильные композиции мазевых основ, представленные в таблице 2.

**Таблица 2**

Составы мазевых композиций с полифенольным комплексом травы хризантемы корейской

Компоненты	Мазевые композиции		
	1	2	3
Вазелин	57,0		
Эмульгатор Т <sub>2</sub>	9,5		
ПЭГ-1500			57,0
ПЭГ- 400		10,0	38,0
Вода очищенная	28,5	85,0	
Карбопол-940		1,0	
Раствор NaOH 10%		3,0 мл	
Полифенольный комплекс травы хризантемы корейской	5,0	5,0	5,0

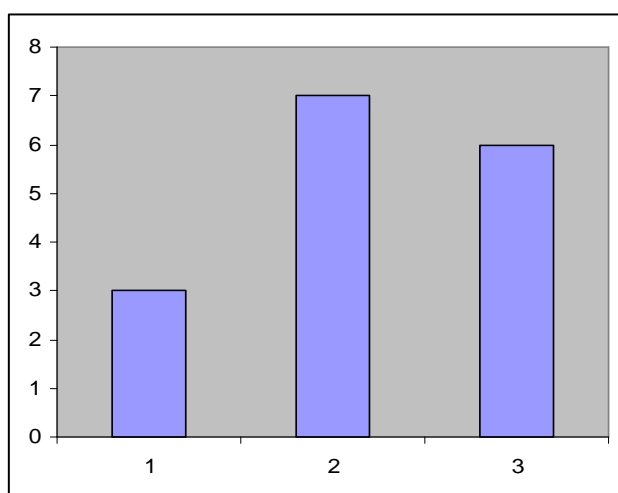
Первая мазевая композиция – липофильно-гидрофильная – вазелин/вода (основа Кутумовой), две другие – гидрофильные на основе карбопол-940, ПЭГ-1500 и ПЭГ-400. Мази готовили с учётом физико-химических свойств фитокомплекса и типа основы [4,5].

С целью выявления оптимальной мазевой основы изучали степень и скорость высвобождения полифенольного комплекса из мазевых основ в опытах *in vitro* методом диффузии в агаровый гель. Метод основан на способности дубильных веществ давать цветную реакцию с железоаммониевыми квасцами. Для этого в 2% агаровый гель вводили свежеприготовленный раствор квасцов железоаммонийных. В сформированном геле металлическим цилиндром (d=8 мм) вырезали лунки, в которые помещали исследуемые образцы мазей (по 0,3 г). Готовую систему оставляли на одни сутки, после чего определяли размеры окрашенных зон.

Антимикробную активность мазей определяли методом «колодцев», который основан на диффузии испытуемых мазей из «колодца» в питательный агар, засеянный различными тест-культурами.

Количественный анализ мази с полифенольным комплексом из травы хризантемы корейской проводили по содержанию дубильных веществ перманганатометрическим методом. Навеску мази, около 5,0 г помещали в колбу, прибавляли 150 мл горячей воды (50-60 °С), встряхивали до полного растворения основы, прибавляли 25 мл раствора индигосульфокислоты, титровали при постоянном перемешивании раствором калия перманганата 0,1М до золотисто-жёлтого окрашивания. Параллельно проводили контрольный опыт. Содержание суммы дубильных веществ полифенольного комплекса из травы хризантемы корейской определяли в пересчёте на танин.

**Результаты.** Методом диффузии в агаровый гель установлено, что высвобождение дубильных веществ полифенольного комплекса из травы хризантемы корейской в большей степени идёт из мази на гидрофильной основе: ПЭГ-1500 и ПЭГ-400, несколько хуже - из мази на основе карбопол-940. Самая низкая степень высвобождения имела место из мази на липофильно-гидрофильной основе Кутумовой (рис. 1).



1. Основа липофильно-гидрофильная
2. Основа ПЭГ-1500 и ПЭГ-400
3. Основа на карбополе-940

Рис. 1. Диаграмма высвобождения дубильных веществ из мазей на различных основах

Аналогичные результаты были получены при определении антимикробной активности изучаемых мазей на 8 штаммах микроорганизмов (табл. 3).

**Таблица 3**

Результаты микробиологического исследования различных композиций мазей и их основ

Исследуемые объекты	Тест – культуры								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Диаметры отсутствия зон, мм								
1	3	7	4	-	-	-	6	4	3
2	10	12	10	15	-	12	12	12	11
3	8	13	9	-	-	-	10	10	15

4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	10	11	15	-	-	-	10	10	10
8	7	8	8	7	-	-	7	8	8

Примечание: **Условные обозначения:** диаметр отсутствия роста до 10 мм – слабовыраженное антибактериальное действие; диаметр зоны отсутствия роста свыше 10 мм – антибактериальное действие выражено; отсутствие зоны задержки роста, антибактериальное действие не выявлено.

**Тест-культуры:** 1- *S. aureus* (Макаров); 2- *S. aureus* Type; 3-*S. Epidermidis* Wood-46; 4-*Escherichia coli* 675; 5- *Proteus vulgaris*; 6-*Salmonella gallinarum*; 7- *Baccillus subtilis* L<sub>2</sub>; 8- *Bac. Anthracoides*-96; 9- *Bac. Anthracoides*-1.

**Исследуемые объекты:** 1– мазь, содержащая полифенольный комплекс на основе Кутумовой; 2 – мазь, содержащая полифенольный комплекс на основе – ПЭГ; 3 – мазь, содержащая полифенольный комплекс на основе карбопол-940; 4 – основа Кутумовой; 5 – основа ПЭГ-400 и ПЭГ-1500; 6 – основа на карбополе-940; 7 – 5% водная суспензия полифенольного комплекса из травы хризантемы; 8 – мазь календулы.

Проведенные исследования выявили антибактериальное действие у мазей, содержащих полифенольный комплекс на основах ПЭГ и карбопол-940. Выявлено очень слабое антимикробное действие у мази на основе Кутумовой.

Антибактериальное действие мазей с полифенольным комплексом превышало действие мази календулы. При этом спектр антимикробного действия мази на основе ПЭГ был шире, чем на основе карбопол-940. Антибактериальное действие 5% мази с полифенольным комплексом из травы хризантемы корейской на основе ПЭГ обладает наибольшей активностью, а его спектр распространяется не только на грамположительную микрофлору (стафилококки и бациллы), но и на грамотрицательные энтеробактерии (*Escherichia coli* и *Salmonella gallinarum*).

Результаты проведенных микробиологических исследований свидетельствуют о том, что из изучаемых нами основ оптимальной для мази с фитокомплексом травы хризантемы корейской является гидрофильная основа, содержащая в своём составе ПЭГ-1500 И ПЭГ-400. Поэтому дальнейшее исследования проводились с мазью следующего состава:

ПЭГ-1500 – 57,0 г

ПЭГ-400 – 38,0 г

Полифенольный комплекс травы хризантемы корейской – 5,0 г

Изучены структурно-механические свойства предлагаемой мази, характеризующие её стабильность при хранении и мажущие свойства. Установлено, что осмотическая активность мази составила около 720%, значение рН мази определяли потенциометрически,

установлено, что оно равно 6,4, что соответствует рН полости рта. Мазь обладает агрегативной стабильностью.

Количественное определение дубильных веществ в мази, проведенное перманганатометрическим методом показало, что содержание дубильных веществ составило около 1,4%. Относительная погрешность определения не превышала  $\pm 1,3\%$  (табл. 4).

**Таблица 4**

Результаты определения дубильных веществ в мази с полифенольным комплексом из травы хризантемы корейской ( $V_{к.о.}=0,9$  мл)

Навеска мази, г	Объем титранта, мл	Найдено суммы дубильных веществ, %	Метрологические характеристики
5,022	17,7	1,42	$\bar{X} = 1,39$
5,120	17,9	1,38	$S = 0,017$
4,960	17,6	1,40	$S_{\bar{X}} = 0,007$
4,930	17,4	1,39	$\Delta X = 0,018$
5,130	17,8	1,37	$\varepsilon = 1,30$
4,960	17,5	1,39	

**Выводы.** Изучен химический состав травы хризантемы корейской. Выявлено наличие высокого содержания дубильных веществ, около 11%.

Методом дробной мацерации с последующей очисткой извлечения получен полифенольный комплекс из травы хризантемы корейской.

На основе проведенных биофармацевтических и микробиологических исследований разработан состав и технология стоматологической мази с полифенольным комплексом на гидрофильной основе.

Проведена стандартизация предлагаемой мази. Для определения дубильных веществ в мази предложен перманганатометрический метод.

### Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР.- Вып.1:Общие методы анализа / МЗ СССР.-11-е изд. – М.:Медицина,1987. – 366 с.
- 2.Козлова Н.Г. Разработка технологии мазей противовоспалительного, ранозаживляющего и противоаллергического действия: Автореф. дис. канд. фармац. наук. – Харьков, 1983. – 23 с.
- 3.Лекарственные растения государственной фармакопеи/Под ред. И.А. Самылиной, В.А. Северцева.– М.: «АНМИ»,2003. – 534 с.

4. Создание стоматологических иммобилизованных систем полифункционального действия/ В.И. Погорелов, Т.Ф. Маринина, Л.Н. Савченко и др.//Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб.науч.тр. – Пятигорск, 2009. – Вып.64. – С. 204-205.
5. Технологические аспекты создания мазей, обладающих противомикробным и противовоспалительным действием/ Ю.Г. Пшуков, Т.Ф. Маринина, Л.Н. Савченко и др. // Материалы науч. и учебно-метод. конф. – Уфа, 1996. – С. 81-83.

**Рецензенты:**

Лазарян Д.С., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Степанова Э.Ф., д.фарм.н., профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.