

А.С. Саушкина¹, Л.Н. Савченко²,
Б.А. Чакчир¹, Т.Ф. Маринина²

Применение радиационной деконтаминации (стерилизации) в технологии стоматологических лекарственных пленок

¹Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург
²Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Резюме. Разработаны оптимальный состав, способы идентификации и количественного анализа стоматологических лекарственных пленок обычного и пролонгированного действия, содержащих хлорофиллипт. Методом диффузии в агар способом «колодцев» показано выраженное антимикробное действие разработанных пленок на штаммы микроорганизмов, вызывающих воспалительные заболевания ротовой полости. Методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии установлено отсутствие продуктов радиолитического разложения хлорофиллов в объектах исследования. Подтверждена стабильность исследованных стоматологических лекарственных пленок после радиационного воздействия стерилизующей дозой гамма-излучения 25 кГр (время растворения, осмотическая активность, механическая прочность, количественное содержание суммы хлорофиллов). Показано, что радиационная деконтаминация повышает степень микробиологической чистоты стоматологических лекарственных пленок.

Ключевые слова: стоматологические лекарственные пленки, радиационная деконтаминация (стерилизация), хлорофилл, исследования, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия, микробиологические исследования.

Введение. Известно, что микробиологическая чистота лекарственных средств в основном обусловлена факторами внешней среды и в процессе производства достигается разными способами. При попадании микроорганизмов с сырьём требуемый уровень микробиологической чистоты лекарственных средств обеспечивает очистка от них исходных продуктов. При обсеменении микробами в процессе изготовления деконтаминируют готовую продукцию [4, 9]. Перспективным способом снижения содержания микроорганизмов, а при необходимости и достижения стерильности лекарственных средств, является гамма-излучение [4, 5]. Достоинством этого способа деконтаминации (стерилизации) является отсутствие образования канцерогенных, мутагенных, токсичных веществ, сохранение физико-химических и биологических свойств обрабатываемых лекарств. Одновременно, по данным Е.С. Громовой и И.Н. Ивлевой [4], срок годности стерилизованных изделий в герметичной полиэтиленовой упаковке увеличивается до 5 лет.

Оптимальным вариантом лечения заболеваний пародонта являются аппликации, обеспечивающие непосредственное воздействие лекарственных средств на пораженный участок. На основе изучения биотехнологических характеристик (скорость высвобождения действующих веществ, осмотическая

активность, механическая прочность и другие) и антимикробной активности разработан оптимальный состав стоматологических лекарственных пленок (СЛП), содержащих хлорофиллипт (табл. 1, 2).

Цель исследования. Разработать противоспалительные СЛП разной длительности действия, содержащие хлорофиллипт и способы их стандартизации. Изучить возможность радиационной деконтаминации пленок.

Таблица 1
Состав стоматологических лекарственных пленок

Ингредиенты (на 100 г пленочной массы)	Пленка	
	Пролонгированная	Обычная
Желатин, г	6,0	
Метилцеллюлоза, г	–	3,0
Глицерин, г	7,0	2,0
Вода очищенная, мл	67,0	95,0
Хлорофиллипта раствор спиртовой 1%, мл	20,0	40,0

Примечание: пленка – однородная прозрачная пластинка светло-коричневого цвета размером 2×0,7 см. Запах и вкус специфические.

Материалы и методы. Использовали метод диффузии в агар способом «колодцев» для изучения антимикробного действия СЛП, содержащих хлорофиллипт [3]. Установлена выраженная антибактериальная активность СЛП ко всем тест-культурам (диаметр зон задержки роста свыше 10 мм) при отсутствии таковой у матриц плацебо (см. табл. 2).

Разработаны способы идентификации и количественного определения суммы хлорофиллов в СЛП методом непосредственной спектрофотометрии, определены основные технологические показатели (табл. 3).

Установлено, что образцы СЛП соответствуют требованиям нормативного документа по всем по-

казателям. При этом СЛП на основе 6% желатина проявляют пролонгированное действие, на основе 3% геля МЦ – более быстрое, но кратковременное.

Испытания микробиологической чистоты показали, что оба вида СЛП соответствуют категории 2 (табл. 4).

Образцы СЛП, содержащие хлорофиллипт, обработаны стерилизующей дозой ионизирующего излучения (25 кГр) на гамма-облучательной установке «Исследователь» (Россия) при средней мощности дозы гамма-излучения в рабочем объеме камеры 42,5 Гр/мин [5, 6].

Действующие вещества в СЛП до и после облучения идентифицировали методом хроматографии

Таблица 2

Антимикробное действие стоматологических лекарственных пленок, содержащих хлорофиллипт, n=6

Объект исследования	Тест-культура						
	1	2	3	4	5	6	7
	Диаметр зон задержки роста, мм						
Матрица плацебо-1	–	–	–	–	–	–	–
Хлорофиллипт	15	16	14	15	18	14	17
СЛП пролонгированная	15	13	12	13	14	13	15
Матрица плацебо-2	–	–	–	–	–	–	–
СЛП обычная	15	13	12	13	14	13	15

Примечание: тест-культура: 1 – *staphylococcus aureus* 209-P; 2 – *staphylococcus aureus* (Макаров); 3 – *staphylococcus aureus* «Туре»; 4 – *staphylococcus epidermidis*; 5 – *pneumococcus pneumoniae*; 6 – *streptococcus viridans*; 7 – *streptococcus pyogenes*; матрица плацебо-1: 6% гель желатина; матрица плацебо-2: 3% гель МЦ.

Таблица 3

Результаты анализа СЛП, содержащих хлорофиллипт, n=6

Показатель	Пленка	
	Пролонгированная	Обычная
Подлинность: спектр поглощения хлорофилла (650±2), нм	648	648
Средняя масса пленки, г	0,194±0,010	0,194±0,016
Время растворения, мин	197,2±20,8	51,0±7,0
Осмотическая активность, % (от 30 мин до 180 мин)	320–800	320–600
pH 10% водного раствора	6,7±0,2	6,3±0,2
Потеря в массе при высушивании, %	10,6±0,1	6,8±0,2
Механическая прочность, пА	5,6±0,1	3,8±0,05
Количественное определение, г/на 1 дозу (модельная смесь)	0,039±0,002	0,078±0,002
Метрологические характеристики	$\bar{X} = 99,79; S = 0,9674;$ $S_{\bar{x}} = 0,3949;$ $\Delta\bar{X} = 1,0109; \bar{\epsilon} = 1,01;$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 99,8 \pm 1,0$	$\bar{X} = 99,27; S = 0,8794;$ $S_{\bar{x}} = 0,3590;$ $\Delta\bar{X} = 0,9226; \bar{\epsilon} = 0,93;$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 99,3 \pm 0,9$

Примечание: \bar{X} – среднее значение выборки; S – стандартное отклонение; $S_{\bar{x}}$ – стандартное отклонение среднего результата; $\Delta\bar{X}$ – доверительный интервал; $\bar{\epsilon}$ – относительная погрешность среднего результата; $\bar{X} \pm \Delta\bar{X}$ – граничные значения доверительного интервала среднего результата.

Микробиологическая чистота СЛП, содержащих хлорофиллипт

Объект исследования	Содержание микроорганизмов (на 1 пленку)			
	аэробные бактерии	энтеробактерии	pseudomonas aeruginosa	staphylococcus aureus
Хлорофиллипт	<10	-	-	-
СЛП пролонгированная	<100	-	-	-
СЛП обычная	<100	-	-	-

в тонком слое сорбента. 1,0 г измельченных СЛП взбалтывали с 25 мл 95% этанола в течение 10 мин. На пластинку наносили по 20 мкл спиртовых извлечений из нативных и облученных (доза 25 кГр) образцов СЛП. В качестве свидетеля использовали раствор хлорофиллипта 1% спиртовой. Хроматографировали восходящим методом на пластинках «Силуфол-УФ 254» (Россия) в системе растворителей бензол-метанол-ацетон (4:1:5) и «Сорбфил ПТСХПА УФ-254» (Россия) в системе петролейный эфир-ацетон (7:3). Пятна на хроматограммах (рис. 1) детектировали при дневном освещении и УФ свете при 365 нм [7].

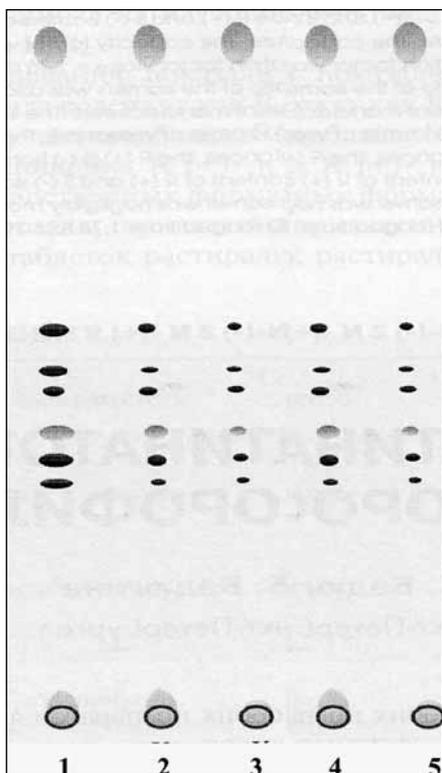


Рис. 1. Хроматограммы: хлорофиллипта раствор спиртовой 1% (1); спиртовые извлечения из: СЛП (обычных) до облучения (2) и после облучения (3); СЛП (пролонгированных) до облучения (4) и после облучения (5) (доза гамма-излучения 25 кГр)

На хроматограммах спиртовых извлечений из СЛП обычного и пролонгированного действия до и после гамма-облучения идентифицированы пятна со значениями R_f , характерными для всех объектов. Пятна с R_f 0,98 и 0,38, по данным Т.А. Балаева с соавт. [7], принадлежат, соответственно, каротину и ксантофиллу. На хроматограммах всех образцов по величине и интенсивности окраски преобладали пятна с R_f (0,34±0,02); (0,47±0,02); (0,51±0,03), совпадающие по положению с пятнами раствора свидетеля – хлорофиллипта раствора спиртового 1%. Одновременно установлено, что хроматограммы всех образцов СЛП до и после радиационного воздействия идентичны и отражают отсутствие продуктов радиолитического разложения хлорофилла.

Изучение спектров поглощения спиртовых извлечений из необлученных и облученных образцов СЛП, содержащих хлорофиллипт, в области 400–700 нм показало, что они имеют полосы поглощения с максимумами при 448 и 648 нм, соответствующие полосам поглощения хлорофилла b (450±2; 648±3 нм) [1, 7, 8]. Спектры поглощения спиртовых извлечений из образцов СЛП до и после воздействия гамма-излучения в дозе 25 кГр идентичны и отражают отсутствие продуктов радиолитического разложения хлорофиллов (рис. 2).

Количественное содержание хлорофиллов в СЛП определено методом непосредственной спектрофотометрии: около 0,5 г (точная навеска) измельченных СЛП экстрагировали в течение 10 мин 25 мл 96% этанола при перемешивании. Элюат собирали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяли тем же экстрагентом дважды по 25 мл. Доводили содержимое мерной колбы до метки 96% этанолом, перемешивали (раствор А).

На спектрофотометре при 648 нм в кювете с толщиной слоя 1 см измеряли оптическую плотность раствора А относительно 96% этанола и оптическую плотность раствора Гетри относительно воды (1 мл реактива соответствует 0,0085 мг суммы хлорофиллов). Содержание суммы хлорофиллов (табл. 5) в СЛП рассчитывали по оптической плотности стандартного образца – раствора Гетри [2].

Установлено, что количественное содержание суммы хлорофиллов и технологические характеристики

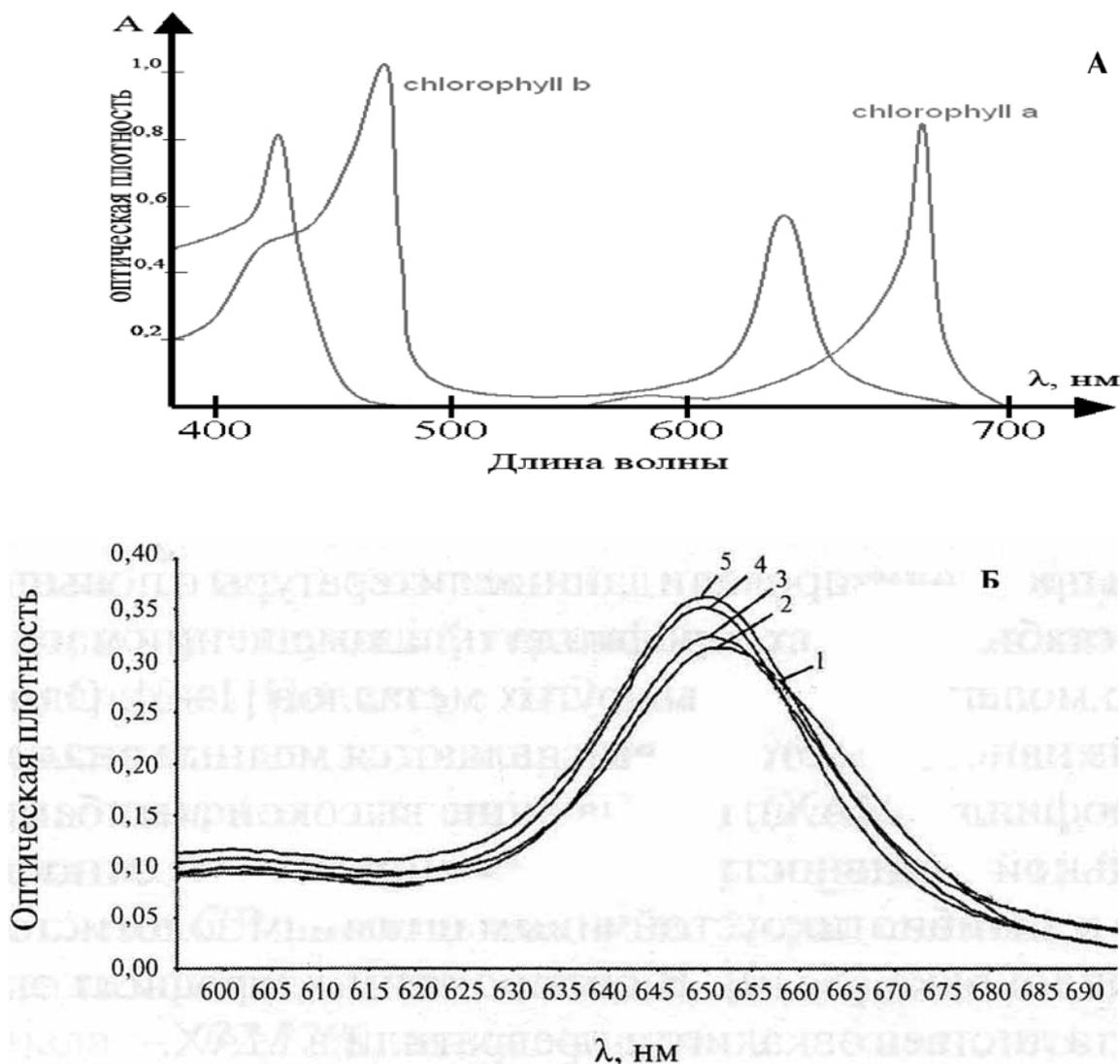


Рис.2. Спектры поглощения: А – хлорофилла а; хлорофилла b; Б – раствора хлорофиллипта 1% спиртового (1); спиртовых извлечений из обычных СЛП до облучения (2) и после облучения (3); спиртовых извлечений из пролонгированных СЛП до облучения (4) и после облучения (5) (доза гамма-излучения 25 кГр)

Анализ СЛП после облучения (доза гамма-излучения – 25 кГр)

Таблица 5

Показатель	Пленка	
	Пролонгированная	Обычная
Подлинность: спектр поглощения хлорофилла (650±2), нм	648	648
Средняя масса пленки, г	0,194±0,010	0,194±0,016
Время растворения, мин	197,2±20,8	51,0±7,0
Осмотическая активность, % (от 30 мин до 180 мин)	320–800	320–600
pH 10% водного раствора	6,7±0,2	6,3±0,2
Потеря в массе при высушивании, %	10,6±0,1	6,8±0,2
Механическая прочность, пА	5,6±0,1	3,8±0,05
Количественное определение, мг/1 доза	0,040±0,002	0,076±0,002

Таблица 6

Микробиологическая чистота СЛП после облучения (доза 25 кГр), n=6

Объект исследования	Содержание микроорганизмов (на 1 пленку)			
	аэробные бактерии	энтеробактерии	<i>pseudomonas aeruginosa</i>	<i>staphylococcus aureus</i>
СЛП пролонгированная	–	–	–	–
СЛП обычная	–	–	–	–

СЛП (время растворения, осмотическая активность, механическая прочность) до и после радиационного воздействия в дозе 25 кГр практически не изменяются. Выявлено, что СЛП после воздействия гамма-излучения в дозе 25 кГр – стерильны (табл. 6). Радиационная деконтаминация практически не влияет на антимикробную активность исследованных образцов СЛП (табл. 7).

Заключение. Разработан состав СЛП, содержащих хлорофиллипт. Установлено влияние полимерной матрицы-носителя на продолжительность действия пленок. Микробиологические исследования показали высокую антимикробную активность СЛП в отношении стафилококков, стрептококков и бактерий, что весьма важно при лечении заболеваний полости рта. Разработаны методики идентификации и количественного определения суммы хлорофиллов в СЛП методом непосредственной спектрофотометрии с относительной погрешностью определения ± 1%. Изучена возможность радиационной деконтаминации СЛП. Установлено, что основные технологические показатели качества пленок (время растворения, механическая прочность, осмотическая активность, рН водного извлечения, потеря в массе при высушивании) до и после облучения стерилизующей дозой гамма-излучения практически не изменились. Это подтверждает перспективность метода радиационной

деконтаминации (стерилизации) для использования в технологии СЛП.

Предложенные пленки, содержащие хлорофиллипт, могут быть рекомендованы для профилактики и лечения заболеваний тканей пародонта в клинической стоматологии.

Литература

1. НД 42-9246-98. Раствор хлорофиллипта 1% спиртовой. – 1998. – МЗ РФ. – 7 с.
2. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков [и др.]. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. Ч. 1. – М.: Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. – 704 с.
4. Громова, Е.С. Проблема микробиологической чистоты при производстве мягких лекарственных форм / Е.С. Громова, И.Н. Ивлева // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 7. – С. 10–11.
5. Абдулов, Р.А. Радиационная обработка пищевых продуктов, специй, лекарственных средств и вспомогательных материалов / Р.А. Абдулов [и др.] // Обеспечение единства измерений в радиационных технологиях: сб. науч. тр. ВНИИФ. – М.: ВНИИФ, 2007. – С. 182–191.
6. Генералова, В.В. Дозиметрия в радиационной технологии / В.В. Генералова, М.Н. Гурский. – М.: Изд-во стандартов, 2000. – 184 с.
7. Балаев, Т.А. Идентификация феофитинов меди в галенофиллипте и хлорофиллипте / Т.А. Балаев, Б.Л. Молдавер, И.Б. Бадюгина // Фармация. – 2008. – № 4. – С. 13–16.

Таблица 7

Антимикробное действие СЛП, содержащих хлорофиллипт, после облучения, n=6

Объект исследования	Тест-культура						
	1	2	3	4	5	6	7
	Диаметр зон задержки роста, мм						
Матрица плацебо-1	–	–	–	–	–	–	–
Хлорофиллипт	15	16	14	15	18	14	17
СЛП пролонгированная	15	13	12	13	14	13	15
Матрица плацебо-2	–	–	–	–	–	–	–
СЛП обычная	15	13	12	13	14	13	15

Примечание: тест-культура: 1 – *staphylococcus aureus* 209-P; 2 – *staphylococcus aureus* (Макаров); 3 – *staphylococcus aureus* «Type»; 4 – *staphylococcus epidermidis*; 5 – *pneumococcus pneumoniae*; 6 – *streptococcus viridans*; 7 – *streptococcus pyogenes*; матрица плацебо-1: 6% гель желатина; матрица плацебо-2: 3% гель МЦ.

8. Муравьева, Д.А. Соединения хлорофилла в омеле белой / Д.А. Муравьева, О.И. Попова // Фармация. – 1990. – № 6. – С. 15–17.
9. Фурин, В.А. Разработка методов применения лекарственных желатиновых пленок в военной и гражданской медицине: автореф. ... канд. мед. наук. – Уфа, 2004. – 24 с.

A.S. Saushkina, L.N. Savchenko, B.A. Chakchir, T.F. Marinina

Application of a radioactive decontamination (sterilization) in technology of stomatologic medicinal films

***Abstract.** Optimum composition, means of identification and quantitative analysis of stomatologic medicinal films of the usual and prolonged activity containing chlorophyll are developed. By the Diffusion method in an agar a mean of “wells” the expressed antimicrobial activity of the developed films on the strains of microorganisms invoking inflammatory diseases of an oral cavity is shown. Methods of a thin-layer chromatography and spectrometry position lack of yields of radiological decomposing of a chlorophyll in objects of examination. Stability of the explored stomatologic medicinal films after radioactive action by a sterilizing dose of a gamma-ray 25 kGr (dissolution time, osmotic activity, mechanical strength, the quantitative content of a chlorophyll) is confirmed. It is shown that the radioactive decontamination raises a degree of microbiologic cleanliness of stomatologic medicinal films.*

***Key words:** stomatologic medicinal films, a radioactive decontamination (sterilization), chlorophyll, examinations, a thin-layer chromatography, spectrometry, microbiologic examinations.*

Контактный телефон: +7-911-274-85-59; e-mail: annasaushkina@list.ru