

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].

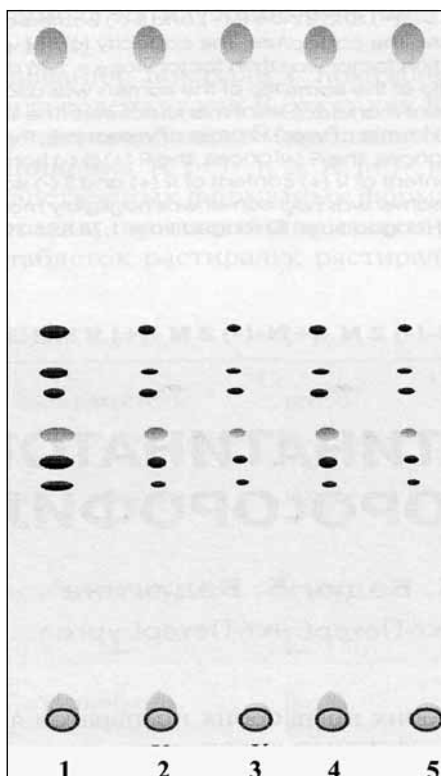


Рис. 1. Хроматограммы: хлорофиллипта раствор спиртовой 1% (1); спиртовые извлечения из: СЛП (обычных) до облучения (2) и после облучения (3); СЛП (пролонгированных) до облучения (4) и после облучения (5) (доза гамма-излучения 25 кГр)

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 хлорофиллов.

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

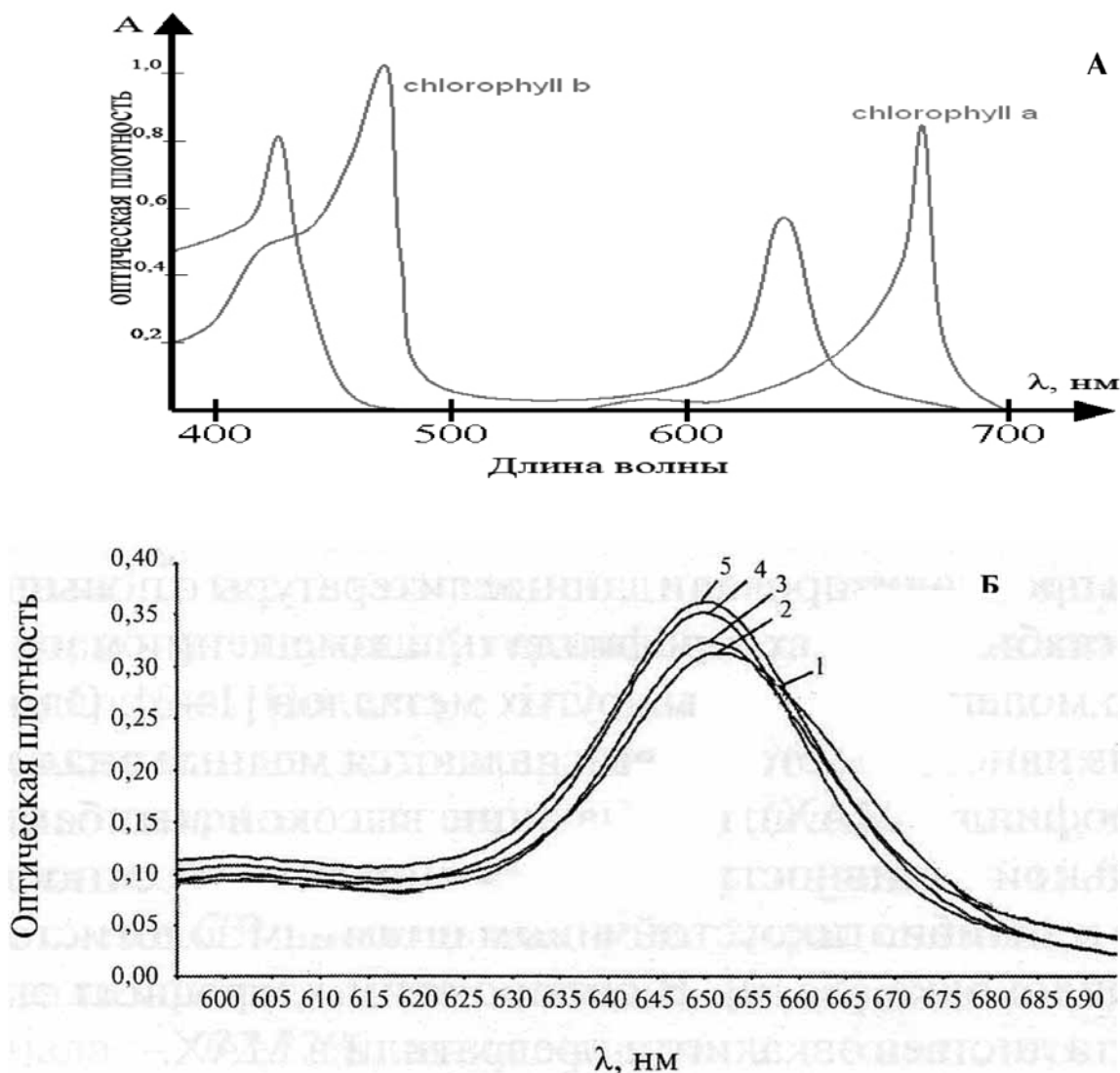


Рис.2. Спектры поглощения: А – хлорофилла а; хлорофилла b; Б – раствора хлорофиллипта 1% спиртового (1); спиртовых извлечений из обычных СЛП до облучения (2) и после облучения (3); спиртовых извлечений из пролонгированных СЛП до облучения (4) и после облучения (5) (доза гамма-излучения 25 кГр)

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
рН 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