

УДК 615.45:615.33:615.014/616.31

РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

© 2003 г. Т.А. Панкрушева, Н.В. Автина, А.А. Панкрушев, А.В. Нестерова, О.А. Медведева

Курский государственный медицинский университет

С использованием биофармацевтических и биологических методов анализа экспериментально обоснованы и разработаны составы, технология многокомпонентных мазей на полимерной основе для лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на успешные достижения клинической стоматологии, воспалительные заболевания пародонта широко распространены среди всего населения, что диктует необходимость разработки новых более эффективных средств для лечения этой патологии [2, 7].

Ротовая полость, зубы и десны являются изолированными доступными зонами, однако, беспрерывное увлажнение их слюной обуславливает быстрое вымывание вводимых лекарственных препаратов в нижележащие отделы пищеварительного канала. Поэтому, для достижения терапевтического эффекта в очагах поражения необходимо многократное введение их в ротовую полость.

В связи с этим особое внимание уделяется разработке таких лекарственных форм, которые обеспечивали бы местное, пролонгирующее терапевтическое действие. Одной из них являются мази, при создании которых необходимо учитывать этиологические факторы заболевания. Действующими компонентами мазей выбраны метронидазол – антибактериальное средство, метилурацил – стимулятор репаративных процессов в тканях и пиромекаин – местноанестезирующее средство [1, 3, 4].

Цель исследований – экспериментальное обоснование и разработка составов, технологии и оценка качества мазей для стоматологической практики, обладающих полифакторным воздействием на очаги поражения слизистой оболочки полости рта.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При разработке мазей особое внимание уделяется подбору оптимальной основы и концентрации в ней лекарственного вещества. С этой целью проведен ряд исследований с использовани-

ем микробиологических и биофармацевтических методов анализа.

Оценку антибактериального действия мазей проводили в опытах *in vitro* методом диффузии в агар на плотных питательных средах (ГФ XI изд., 1990, вып. 2). Исследования осуществляли в асептических условиях, применяя в качестве тест-культуры: *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* ATCC 10702, *St. aureus* ATCC 6538-P, *E. coli* ATCC 25922, *Ps. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 885-653, *Proteus vulgaris* ATCC 6896. Чашки Петри, установленные на столиках со строго горизонтальной поверхностью, заливали расплавленной агаровой средой, предварительно засеянной вышеуказанными тест-штаммами микроорганизмов. В цилиндры каждой чашки с помощью откалиброванного шприца вносили по 0,1 г исследуемого образца мази. Выдерживали чашки при комнатной температуре в течение 1 ч, затем термостатировали (36 ± 1)°C в течение 18 ч. Диаметр зон угнетения роста тест-штаммов измеряли с помощью микробиологической линейки с точностью 0,1 мм. Проводили по 6 параллельных опытов.

Для изучения динамики высвобождения лекарственных веществ из мазовой основы использовали диализ через полупроницаемую мембрану. Исследуемый образец лекарственной формы равномерно наносили на диализную полупроницаемую мембрану (целлофановую пленку МСАТ – 200, толщиной 0,25 мм и размером пор 50 мкм), которую неподвижно укрепляли на конце диализной трубки. Диализную трубку вносили в стеклянный сосуд с диализной средой и погружали ее на глубину не более 2 мм. Диализ проводили в условиях термостата при температуре (37 ± 1)°C. Пробы диализата отбирали через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360 мин с момента начала эксперимента. Взятые количества пробы восполняли новыми порциями диализной среды с температурой (37 ± 1)°C.

Лекарственные вещества в диализате определяли спектрофотометрически по разработанным нами методикам. Количество высвободившихся из мази метронидазола и метилурацила, оценивали спектрофотометрическим методом Фирордта в УФ-области при длинах волн 277 нм (метронидазол) и 260 нм (метилурацил). В качестве диализной среды использовали раствор 0,1 М кислоты хлороводородной; раствором сравнения служил диализат маzewой основы, не содержащей метронидазола и метилурацила.

При определении количества продиализированных веществ из мази, содержащей метронидазол и пиромекаин, также использовали спектрофотометрический метод анализа. Метронидазол в пробах диализата определяли спектрофотометрически в УФ – области при длине волны 277 нм (диализная среда – раствор 0,1 М кислоты хлороводородной; раствор сравнения – диализат мази-плацебо). Пиромекаин определяли методом экстракционной спектрофотометрии, по образованию окрашенных комплексов пиромекаина с индикатором тропеолином 00 (0,1% водный раствор), при значении pH 3,0, создаваемым цитратным буфером. Оптическую плотность окрашенных в желтый цвет хлороформных извлечений измеряли в видимой области спектра при длине волны 410 нм (диализная среда – вода очищенная). Раствором сравнения служил чистый хлороформ.

Размер частиц лекарственных веществ в приготовленных мазях определяли по методике ГФ XI изд. (1990, вып.2.). Анализ проводили с помощью микроскопа, предварительно установив цену деления, при увеличении окуляра 7X и объектива 40X. Под микроскопом просматривали не менее 500 частиц.

Местноанестезирующую активность мазей определяли в опытах *in vivo*, используя метод Ренье [5]. Суть метода заключается в изменении чувствительности роговицы глаза, после внесения лекарственного препарата, к действию механического раздражения. В конъюнктивальный мешок глаза кроликов породы Шиншилла с помощью

шприца вводили 0,1 г исследуемой мази. Через 1, 2, 5, 8, 10, 12, 15 мин, а затем через каждые 5 мин проводили механическое раздражение роговицы калибровочными волосками с частотой 100 ударов в мин до смыкания века. Опыты проводили на 6-ти животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При выборе маzewой основы учитывали анатомо-физиологические особенности строения слизистой оболочки полости рта. По данным литературы легкость и атравматичность нанесения мази, надежную слипаемость ее со слизистой, равномерность распределения обеспечивают гидрофильные основы. В связи с чем, в качестве компонентов маzewых основ использовали натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) в концентрациях от 2 до 5%, полиэтиленоксида М.м. 400 и 1500 (ПЭО), поливиниловый спирт (ПВС) и различные их сочетания друг с другом. В ходе разработки состава основы было приготовлено около 20 композиций, из которых наиболее приемлемыми оказались пять. (табл. 1).

На отобранных основах готовили модельные образцы мазей с концентрацией метронидазола в 1% и осуществляли оценку их антибактериальной активности методом диффузии в агар. Результаты исследований представлены в табл.2.

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что исследуемые образцы мазей обладают антибактериальной активностью в отношении 6-ти тест-штаммов, наибольшей – по отношению к микроорганизмам рода *Bacillus*, и не активны по отношению к *C. albicans*. Проявление максимальной биоцидной активности обеспечивают мази, приготовленные на основе глицерогеля Na-КМЦ в сочетании с полиэтиленоксидом М.м. 400. Введение полиэтиленоксида М.м. 1500, как компонента маzewой основы, значительно уменьшает высвобождение лекарственного вещества из мази.

Таким образом, для дальнейших исследований, связанных с разработкой многокомпонентных составов мазей выбрана основа №2.

Таблица 1

Основы для модельных образцов мазей

Компоненты Основы	Состав маzewых основ				
	1	2	3	4	5
Na-КМЦ	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
ПВС	-	-	-	1,0	1,0
ПЭО – 400	-	5,0	5,0	-	5,0
ПЭО – 1500	-	-	5,0	-	-
Глицерин	10,0	5,0	-	10,0	5,0
Вода очищ.	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0

Таблица 2

Антибактериальная активность модельных образцов мазей с метронидазолом

№ п/п	Состав мазей	Зоны ингибирования роста тест-штаммов, мм						
		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	<i>St. aureus</i> ATCC 6538-P	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6896	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
1.	Метронидазол Na-КМЦ гель Глицерин	30,76± 0,77	30,60± 0,61	15,86± 0,80	13,87± 0,91	11,92± 0,66	13,77± 0,78	-
2.	Метронидазол Na-КМЦ гель ПЭО – 400 Глицерин	32,80± 0,60	32,75± 0,69	17,42± 0,96	16,02± 0,76	14,92± 0,69	15,88± 0,97	-
3.	Метронидазол Na-КМЦ гель ПЭО – 1500 ПЭО – 400	20,27± 0,27	18,93± 0,66	12,05± 0,48	7,92± 0,39	8,20± 0,81	8,97± 0,95	-
4.	Метронидазол Na-КМЦ гель ПВС Глицерин	30,73± 0,67	28,97± 0,01	15,25± 0,72	12,97± 0,84	11,18± 0,71	13,52± 0,90	-
5.	Метронидазол Na-КМЦ гель ПВС ПЭО – 400 Глицерин	30,42± 0,94	30,88± 0,39	15,23± 0,38	13,12± 0,94	11,32± 0,69	13,72± 0,89	-

Обоснование концентрации метронидазола в мазях осуществляли также методом диффузии в агар. При этом лекарственное вещество вводили в основу №2 в концентрации 1%, 2% и 3%. Результаты представлены в табл. 3.

Из данных табл. 3. следует, что зона подавления роста тест-микроорганизмов достоверно увеличивается при переходе концентрации метронидазола от 1% до 2% и практически не изменяется при повышении концентрации до 3%. Поэтому оптимальной, из изученных, следует считать концентрацию 2%.

Основываясь на полученных данных, сделан выбор оптимальной основы для мази (глицерогель Na-КМЦ в сочетании с ПЭО М.м. 400) и концентрации в ней метронидазола (2%).

При лечении стоматологических заболеваний в клинической практике монотерапия антибактериальными средствами не всегда эффективна. Поэтому все чаще, в последнее время, применяется комбинированная или используются препараты полифакторного действия [7].

Для усиления процесса регенерации и снятия болевых ощущений рационально сочетать антибактериальные лекарственное вещество с ранозаживляющим или местноанестезирующим. С этой целью, в состав однокомпонентной мази метронидазола вводили в одном случае метилурацил, в другом – пиромекаин. Таким образом, объектами наших дальнейших исследований явились два состава мазей.

Таблица 3

Антимикробная активность метронидазола от его концентрации в мазях

Концентрация метронидазола в мази	Зоны задержки роста тест-культур, мм					
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	<i>St. aureus</i> ATCC 6538-P	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6896
1%	31,87±0,39	31,75±0,80	16,17±0,97	14,98±0,82	14,43±0,75	15,70±0,59
2%	34,90±0,43	34,90±0,54	19,90±0,67	17,77±0,72	16,95±0,65	16,90±0,56
3%	35,87±0,75	36,00±0,52	21,62±0,84	17,95±0,61	17,83±0,96	17,90±0,52

Результаты дисперсного анализа твердых компонентов мазей

Состав мази	Фракции частиц размером, мкм		
	1 – 12	12 – 40	40 – 80
Метронидазол Метилурацил Гидрофильная основа	55%	30%	15%
Метронидазол Метилурацил ДМСО Гидрофильная основа	96%	4%	-
Метронидазол Пиромекаин Гидрофильная основа	78%	20%	2%
Метронидазол Пиромекаин ДМСО Гидрофильная основа	98%	2%	-

Разработана технологическая схема изготовления мазей, основными стадиями которой является приготовление основы и введение в нее лекарственных веществ. Глицерогель Na-КМЦ готовили по общеизвестной методике [4]. Лекарственные вещества (метронидазол и метилурацил; метронидазол и пиромекаин) измельчали в сухом виде, затем с полиэтиленоксидом-400. К образовавшейся концентрированной суспензии небольшими порциями добавляли заранее приготовленную мазевую основу и гомогенизировали.

Используемые лекарственные вещества нерастворимы в основе и полученный тип мази является суспензионным. Качество таких мазей, их биологическая доступность и терапевтическая эффективность во многом определяется размером частиц лекарственных веществ.

Результаты дисперсологического анализа показали, что выбранная технология обеспечивает достаточную однородность фракционного состава частиц в мазях. (табл. 4).

Однако известно, что слизистая оболочка полости рта обладает низким порогом чувствительности. Поэтому с целью уменьшения ее травмирования необходимо добиться наименьшей степени дисперсности веществ.

Учитывая вышесказанное, на основании анализа литературы, в состав мази был включен диметилсульфоксид (синонимы: димексид, ДМСО), обладающий высокой растворяющей способностью, а также рядом положительных фармакологических свойств: противовоспалительным, анальгетическим, бактериостатическим действи-

ем. Важным является и его пенетрирующий эффект, т.е. способность проводить через кожу и слизистые в более глубокие слои лекарственные вещества [6]. Количество ДМСО подбирали экспериментально, исследуя его влияние на размер частиц лекарственных веществ в мазях.

При введении в состав лекарственных форм нового компонента изменилась технологическая схема производства мазей, а именно – измельчение действующих веществ проводили вначале в сухом виде, затем в присутствии ДМСО. Для получения концентрированной суспензии добавляли рассчитанное количество ПЭО-400. Образовавшуюся первичную суспензию смешивали с основой, все тщательно гомогенизировали.

После введения димексид, изменяется соотношение фракций частиц: отсутствуют частицы размером более 40 мкм и увеличивается количество частиц размером до 12 мкм (96% – 98%).

Изучено влияние ДМСО на высвобождение лекарственных веществ из мазей методом равновесного диализа. (рис. 1, 2.).

Установлено, что диффузия метронидазола из обоих составов мазей происходит более интенсивно и полнее, чем метилурацила и пиромекаина. Максимальная концентрация вещества в диализатах мазей отмечается через 150 – 180 мин и удерживается на постоянном уровне в течение всего эксперимента. Введение ДМСО достоверно не влияет на процесс высвобождения метронидазола. За 6 ч его высвободилось из мази в сочетании с метилурацилом 99% (без ДМСО – 91%); с пиромекаином – 98% (без ДМСО – 90%).

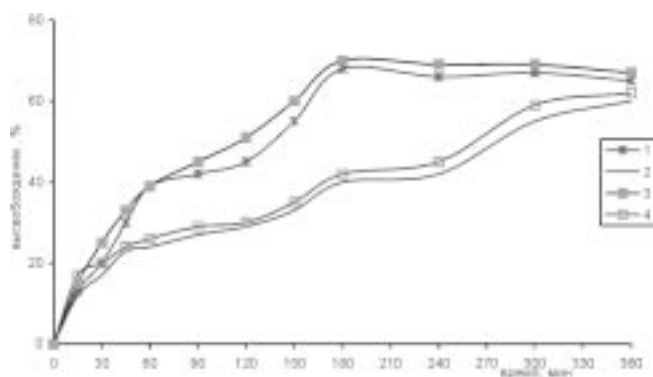


Рис. 1. Высвобождение лекарственных веществ из мазей in vitro: – метронидазола из мази, не содержащей ДМСО (1) и содержащей ДМСО (3); – пиромекаина из мази, не содержащей ДМСО (2) и содержащей ДМСО (4)

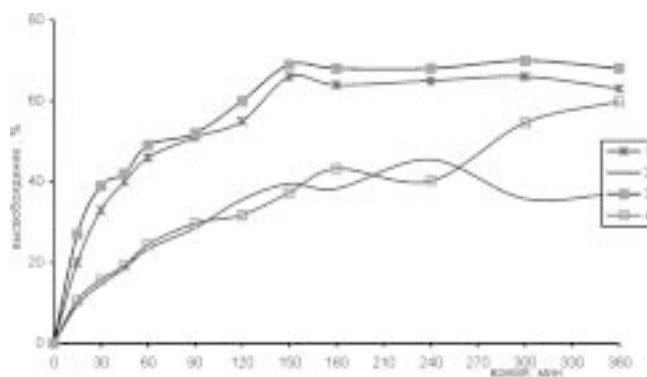


Рис. 2. Высвобождение лекарственных веществ из мазей in vitro: – метронидазола из мази, не содержащей ДМСО (1) и содержащей ДМСО (3); – метилурацила из мази, не содержащей ДМСО (2) и содержащей ДМСО (4)

Таблица 5

Влияние ДМСО на биоцидную активность мазей

Тест-культуры	Состав мазей			
	Метронидазол Метилурацил Гидрофильная основа	Метронидазол Метилурацил ДМСО Гидрофильная основа	Метронидазол Пиромекаин Гидрофильная основа	Метронидазол Пиромекаин ДМСО Гидрофильная основа
Зоны задержки роста тест-культур, мм				
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	34,82±0,75	37,95±0,52	34,95±0,31	37,88±0,54
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	31,98±0,38	34,95±0,31	32,02±0,64	34,95±0,73
<i>St. aureus</i> ATCC 6538-P	20,68±0,59	23,90±0,62	20,77±0,61	23,85±0,46
<i>E. coli</i> ATCC 25922	18,05±0,61	21,87±0,58	18,17±0,87	22,92±0,79
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	17,72±0,87	20,78±0,93	18,00±0,74	20,08±0,61
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6896	16,77±0,51	19,65±0,56	17,32±0,71	20,00±0,47

Скорость диффузии метилурацила и пиромекаина из мазей замедленна в сравнении с метронидазолом. Динамика их высвобождения характеризуется постепенным нарастанием концентрации веществ в диализате.

В опытах не установлено и влияние димексида на высвобождение анестетика из мази. Кривые, отображающие процесс, практически накладываются друг на друга. Количество пиромекаина в диализатах мази с антибактериальным средством, не содержащей и содержащей в своем составе ДМСО, составило 58% и 67% соответственно.

Как следует из данных, представленных на графике, включение димексида увеличивает вдвое полноту высвобождения метилурацила. К окончанию

эксперимента его продиффундировало 82% из мази, содержащей ДМСО и 47% – без ДМСО.

Влияние димексида на антибактериальную активность мазей изучено также и микробиологическим методом диффузией в агар. Полученные результаты представлены в табл. 5..

Их анализ позволяет сделать вывод, что наличие димексида в качестве одного из компонентов мазей, приводит к увеличению зон угнетения роста тест-микроорганизмов а, следовательно, и возрастанию их биоцидной активности.

Исследования, проведенные in vivo (метод Ренне), по определению местноанестезирующей активности мази, содержащей метронидазол и пиромекаин, свидетельствуют о рациональном со-

четании лекарственных веществ. Мази, приготовленные на гидрофильной основе, обладают выраженным пролонгирующим, анестезирующим эффектом. По времени наступления анестезии (2-3 мин после внесения препарата) они не уступают водным растворам, а по длительности – превосходят их (30 – 35 мин, водные растворы – 7 мин). Включение ДМСО в состав мази увеличивает не только глубину и силу анестезии, но и ее длительность. При индексе Ренье 1300 длительность анестезирующего эффекта возрастает почти вдвое и составляет 60 мин.

Таким образом, результаты проведенного эксперимента позволили обосновать составы и технологию многокомпонентных мазей на гидрофильной основе, предназначенных для лечения воспалительных заболеваний пародонта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байгурина, С.Ж. Применение 1% раствора метилурацила в комплексном лечении пародонтита / С.Ж. Байгурина, Б.С. Кушербаев, Р.А. Майжанова // *Здравоохранение Казахстана*. – 1991. – № 11. – С. 42 – 43.
2. Биберман, Я.М. Антисептики в комплексном лечении больных с околочелюстными абсцессами и флегмонами / Я.М. Биберман, В.С. Старо-

дубцев, А.П. Шутова // *Стоматология*. – 1996. – №6. – С. 25 – 27.

3. Грудянов, А.И. Зависимость эффективности препарата «Метрогил-Дента» от длительности локального введения при воспалительных заболеваниях пародонта / А.И. Грудянов, Н.А. Дмитриева, В.В. Овчинникова // *Пародонтология*. – 2002.-№1-2.-С.32-36.

4. Панкрушева, Т.А. Экспериментально-теоретическое обоснование создания мягких лекарственных форм на полимерных основах – производных целлюлозы.: Автореф. дис. ... д. фарм. наук: (15.00.01) / Т.А. Панкрушева; Москва, 1995 – 38 с.

5. Разработка состава многокомпонентной мази с биеном и исследование ее антимикробной, местноанестезирующей и ранозаживляющей активности / И.В. Кутузова, А.И. Тенцова, Е.А. Лукерина и др. // *Фармация*. – 1995. – №5. – С. 31-37.

6. Сеньчукова, П.В. Обоснование состава и стандартизации лекарственных форм, содержащих ДМСО.: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук: (15.00.02) / П.В. Сеньчукова; Пятигорск, 2001. – 22 с.

7. Экспериментально-клиническое обоснование применения препарата Поликатан при заболеваниях пародонта / А.А. Спасов, Э.С. Темкин, О.В. Островский и др. // *Стоматология*. – 1999. – №5. – С. 16 – 19.