

Некомерческое акционерное общество
«Медицинский университет Караганды»

УДК 615.332:615.454

На правах рукописи

БАДЕКОВА КАРАКОЗ ЖАЙЛОВНА

**Разработка технологии противомикробного и противокариесного средства
с эфирным маслом душицы обыкновенной
(*Origanum vulgare* L.)**

6D074800 - Технология фармацевтического производства

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научный руководитель:
член-корр. НАН РК, д.х.н., проф.
Г.А.Атажанова
Зарубежный научный консультант:
PhD, ассоциированный профессор
Томас Касергиус

Республика Казахстан
Караганда, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

	НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	5
	ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	7
	ВВЕДЕНИЕ.....	8
1	СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОГО И ПРОТИВОКАРИЕСНОГО ДЕЙСТВИЙ.....	12
1.1	Научные достижения в области антимикробной активности лекарственных растений в стоматологии.....	12
1.2	Противомикробные и противокариесные фитопрепараты в стоматологии.....	16
1.3	Мягкие лекарственные формы с растительными компонентами противомикробного и протикариесного действия.....	23
1.4	Химические и фармакологические свойства эфирного масла душицы обыкновенной.....	29
1.4.1	Компонентный состав эфирного масла душицы обыкновенной	29
1.4.2	Химический состав полярных фракций душицы обыкновенной.....	33
1.4.3	Биологическая активность душицы обыкновенной.....	35
2	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1	Материалы исследования	39
2.2	Методы исследования.....	39
3	ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОКАРИЕСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ.....	47
4	ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ, ФАРМАЦЕВТИКО - ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ <i>ORIGANUM VULGARE</i> L.....	51
4.1	Заготовка, сушка и хранение лекарственного растительного сырья <i>Origanum vulgare</i> L.....	49
4.2	Морфолого-анатомическое изучение травы <i>Origanum vulgare</i> L.....	53
4.2.1	Макроскопическое изучение листьев <i>Origanum vulgare</i> L.....	53
4.2.2	Микроскопическое изучение листьев <i>Origanum vulgare</i> L.....	56
4.3	Изучение фармацевтико-технологических параметров <i>Origanum vulgare</i> L.....	60
4.4	Разработка спецификации качества <i>Origanum vulgare</i> L.....	62
5	РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ И ПРОТИВОКАРИЕСНОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ ДУШИЦЫ	67

	ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>ORIGANUM VULGARE L.</i>)	
5.1	Выделение эфирного масла душицы обыкновенной и изучение его химического состава.....	67
5.2	Методы получения субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой».....	74
5.2.1	Получение этанольного экстракта травы душицы обыкновенной.....	74
5.2.2	Получение экстракта душицы обыкновенной, полученного в результате ультразвуковой кавитации.....	76
5.2.3	Получение экстракта душицы обыкновенной, полученного в результате микроволновой экстракции.....	77
5.3	Разработка технологии субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой».....	80
5.4	Стандартизация сухого экстракта душицы обыкновенной и определение его стабильности.....	83
5.5	Исследование стабильности экстракта сухого душицы обыкновенной и установление сроков хранения.....	85
6	РАЗРАБОТКА СОСТАВА И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ЭФИРНОГО МАСЛА И СУХОГО ЭКСТРАКТА <i>ORIGANUM VULGARE L.</i>.....	90
6.1	Обоснование состава и разработка технология стоматологического геля.....	90
6.2	Технология получения стоматологического геля на основе эфирного масла и сухого экстракта душицы обыкновенной.....	98
6.3	Реологические свойства геля	101
6.4	Высвобождение действующего вещества.....	
	Биофармацевтическое исследование стоматологического геля	103
6.5	Стандартизация стоматологического геля.....	106
6.6	Определение критериев качества и установление сроков хранения геля.....	107
6.7	Валидация количественного определения карвакрола в лекарственной форме.....	110
7	ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ И ПРОТИВОКАРИЕСНОЙ АКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ, ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТА И ГЕЛЯ.....	118
7.1	Скрининг эфирного масла душицы обыкновенной на противокариесную активность.....	118
7.2	Скрининг водных и водно-этанольных экстрактов на антимикробную активность.....	120
7.3	Исследование на антимикробную активность образцов стоматологического геля	123
7.4	Противовоспалительная активность стоматологического геля	125
7.5	Изучение острой токсичности сухого экстракта орегано,	126

	полученного в условиях ультразвуковой кавитации.....	
7.6	Исследование на острую токсичность комбинированной мягкой лекарственной формы «ПКГЗ».....	129
8	ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОМИКРОБНОГО И ПРОТИВОКАРИЕСНОГО СРЕДСТВА С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>ORIGANUM VULGARE L.</i>).....	135
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	140
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	145
	ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	163
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	164
	ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	165
	ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	166
	ПРИЛОЖЕНИЕ Д.....	167
	ПРИЛОЖЕНИЕ Е.....	168
	ПРИЛОЖЕНИЕ Ж.....	169
	ПРИЛОЖЕНИЕ К.....	170
	ПРИЛОЖЕНИЕ Л.....	171
	ПРИЛОЖЕНИЕ М.....	172
	ПРИЛОЖЕНИЕ Н.....	173
	ПРИЛОЖЕНИЕ П.....	174

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие нормативные документы:

ГОСТ 8.417-81. Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы физических величин

ГОСТ Р 7.0.100-2018 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления»

Государственная Фармакопея Республики Казахстан Том 1.–Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2008. – 592 с.

Государственная Фармакопея Республики Казахстан. Том 2.–Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2009. – 804 с.

Государственная Фармакопея Республики Казахстан. Том 3.–Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2014. – 872 с.

Постановление Правительства Республики Казахстан об утверждении «Государственной программы индустриально-инновационного развития Республики Казахстан на 2020-2025 годы» №1050 от 31 декабря 2019 года.

Приказ Министра здравоохранения РК №142 от 2 апреля 2018 года «Об утверждении Правил проведения неклинических исследований, клинических исследований, клинико-лабораторных испытаний медицинских изделий для диагностики *in vitro*, а также требований к доклиническим и клиническим базам»

Приказ Министра здравоохранения РК от 16 февраля 2021 года №ҚР ДСМ-20 «Об утверждении правил разработки производителем лекарственных средств и согласования государственной экспертной организацией нормативного документа по качеству лекарственных средств при экспертизе лекарственных средств».

Приказ Министра национальной экономики РК № ҚР ДСМ-19 от 16 февраля 2021 года «Об утверждении правил хранения и транспортировки лекарственных средств и медицинских изделий»

Приказа Министра здравоохранения РК № ҚР ДСМ-11 от 27 января 2021 года «Об утверждении правил маркировки лекарственных средств и медицинских изделий»

Приказа Министра здравоохранения РК №ҚР ДСМ-165/2020 от 28 октября 2020г. «Об утверждении Правил проведения производителем лекарственного средства исследования стабильности, установления срока хранения и повторного контроля лекарственных средств»

Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии № 69 от 10 мая 2018 г. "Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций"

Решение Коллегии Евразийской экономической Комиссии №113 от 17 июля 2018 г. "Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств"

Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 15 от 26 января 2018 г. "Об утверждении Правил надлежащей практики выращивания, сбора, обработки и хранения исходного сырья растительного происхождения"

Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 76 от 3 ноября 2016г. "Об утверждении Требований к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств"

Руководящие принципы по надлежащей практике культивирования и сбора (GACP) лекарственных растений

Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии №151 от 7 сентября 2018 г. "Об утверждении Руководства по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата"

Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии №169 от 07 декабря 2021 г. "Об утверждении Требований к исследованию стабильности растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного сырья) и лекарственных растительных препаратов)"

Фармакопея ЕАЭС №100 от 11 августа 2020 года

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АОС	Антиоксидантная система
БАВ	Биологически активные вещества
БФ	Британская фармакопея
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВР	Вспомогательные работы
ВЭЖХ-МС	Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-детектором
ГОСТ	Государственный отраслевой стандарт
ГФ РК	Государственная Фармакопея Республики Казахстан
ГХ	Газовая хроматография
ГХ-МС	Газовая хроматография- масс-спектрометрия
ДМСО	Диметилсульфоксид
ЕД	Единица измерения
Ф ЕАЭС	Фармакопея Евразийского экономического совета
кГц	Килогерц
КОЕ	Колониеобразующие единицы
л	Литр
ЛРС	Лекарственное растительное сырье
ЛС	Лекарственное средство
МБК	Минимальная бактерицидная концентрация
МБЧ	Микробиологическая чистота
МЗ РК	Министерство здравоохранения Республики Казахстан
МЛФ	Мягкие лекарственные формы
мг/кг	Миллиграмм/килограмм
мкл	Микролитр
мкм	Микрометр
мм	Миллиметр
МПА	Мясопептонный агар
МПК	Минимально-подавляющая концентрация
НД	Нормативный документ
Натрий КМЦ	Натрий карбоксиметилцеллюлоза
ОФС	Общая фармакопейная статья
СО	Стандартный образец
СВЧ	Микроволновое излучение
ПОЛ	Перекисное окисление липидов
ПКГ	Противокариесный гель
см	Сантиметр
СФ	Спектрофотометрия
ТП	Технологический процесс
ТЭО	Технико-экономическое обоснование
УМО	Упаковка, маркировка, отпуск
ЭМ	Эфирное масло
<i>S. mutans</i>	Бактерия <i>Streptococcus mutans</i>

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена разработке состава, технологии и стандартизации комбинированного стоматологического геля противокариесного, противовоспалительного и антимикробного действия на основе эфирного масла и сухого экстракта душицы обыкновенной, полученного в условиях ультразвуковой кавитации.

Актуальность проблемы

Кариес зубов - наиболее распространенное хроническое инфекционное заболевание полости рта [1-9]. По оценкам, во всем мире 2 миллиарда человек страдают кариесом постоянных зубов и 520 миллионов детей страдают кариесом молочных зубов. Основным этиологическим компонентом кариеса зубов являются виды бактерий (преимущественно стрептококки, лактобациллы и бифидобактерии). В 1 мл слюны человека содержится примерно от 20 до 400 миллионов микроорганизмов, принадлежащих к более чем 700 видам, в том числе *Streptococcus mutans*, открытому Клерке в 1924 г.

Кариесогенные бактерии могут легко образовывать биопленки на поверхности зубов, быстро вырабатывая молочную кислоту и, следовательно, вызывая кариес. В настоящее время заболеваемость кариесом продолжает расти. В течение последних пятидесяти лет не было никаких инноваций в области профилактики кариеса зубов. Участие микроорганизма как в оральных, так и в неоральных заболеваниях вызвало интерес к знанию его чувствительности к противомикробным агентам. Тем не менее, антибиотики не подходят для рутинного использования в качестве средств против зубного налета, и их использование в лекарственных препаратах должно быть ограничено. Современные методы лечения не обладают чувствительностью; они не являются видоспецифичными и убивают патогенные виды. Следовательно, существует потребность в восстановлении и разработке новых терапевтических стратегий, которые предотвращают или устраняют образование биопленок более точными способами, избирательно воздействуя на кариесогенные бактериальные биопленки и специально ориентированные на профилактику и лечение кариеса зубов в клинической практике.

Перспективным альтернативным подходом является фитотерапия. Известно, что эфирные масла и экстракты лекарственных растений или фитохимические вещества ингибируют образование зубных биопленок за счет уменьшения адгезии микробных патогенов к поверхности зубов, что является основным событием в инициации и развитии кариеса.

Цель работы: разработка технологии противомикробного и противокариесного средства на основе субстанций душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) и его стандартизация.

Задачи исследования:

1. Провести анализ данных литературы о состоянии разработок в области создания противомикробного, противокариесного и противовоспалительного средства и скрининговые исследования образцов

эфирных масел на противокариесную активность и для обоснования выбора объекта исследования;

2. провести сбор и фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*).

3. разработать технологию получения антимикробных и противокариесных субстанций, полученных из душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) и провести их стандартизацию;

4. провести фармацевтическую разработку геля на основе эфирного масла и этанольного экстракта душицы обыкновенной и изучить его стабильность; исследовать специфическую активность и безопасность разработанного состава лекарственной формы

5. провести технико-экономическое обоснование производства геля.

Объекты исследования: лекарственное сырье душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*); суммы экстрактивных веществ: этанольные экстракты и эфирное масло душицы обыкновенной; стандартные образцы: карвакрол, розмариновая кислота.

Предмет исследования: оптимальные условия экстракции душицы обыкновенной для количественного извлечения карвакрола, показатели качества субстанции эфирного масла и водно-этанольных, и этанольных экстрактов и их биологическая активность, способ и технология получения стоматологического геля, нормативная документация на стоматологический гель и на субстанции.

Научная новизна работы:

- впервые проведено изучение противокариесное действие опытных образцов эфирных масел растений, где выявлено, что эфирное масло душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) ингибирует образование биопленки *Streptococcus mutans*, т.е. обладает выраженным противокариозным эффектом и является перспективной фармацевтической субстанцией для разработки нового лекарственного стоматологического средства;

- впервые разработан состав нового комбинированного лекарственного средства антимикробного и противокариесного действия на основе душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) в виде геля;

- впервые разработана технология получения антимикробного и противокариесного действия на основе субстанций, полученных из душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*);

- впервые разработаны методы контроля качества разработанного лекарственного средства на основе душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*); определен срок и условия хранения комбинированного геля.

Научная новизна диссертационного исследования подтверждена патентом РК на изобретение №35343 от 05.11.2021 г. «Антимикробный стоматологический гель» (Приложение А).

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:

• выделение эфирных масел из растений Казахстана. Поиск перспективного эфирного масла, обладающего противокариесным и

противомикробным действием;

- экспериментальные исследования получения субстанции (эфирного масла и этанольного экстракта) из душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*);
- разработка состава комбинированного лекарственного средства антимикробного, противовоспалительного и противокариесного действия на основе орегано (*Origanum vulgare L.*) в виде геля;
- нормативные документы на стоматологический гель в виде проекта НД (Приложение Б) и лабораторного регламента на получение (Приложение В).

Практическая значимость работы:

На основе фармацевтической субстанций (эфирное масло и сухой экстракт *Origanum vulgare L.* разработана мягкая лекарственная форма в виде геля противомикробного, противовоспалительного и противокариесного действия.

По результатам доклинических (неклинических) испытаний гель не обладает токсическими свойствами и рекомендован как противомикробное, противовоспалительное и противокариесное средство (Приложение Г).

Разработан лабораторный регламент на получение стоматологического геля (Приложение В).

Технологический процесс получения экстрактов душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) ультразвуковым методом внедрено в Школе фармации НАО «Карагандинский медицинский университет» (Приложение Д).

Личный вклад автора в диссертационную работу заключается в анализе литературных и патентных источников, проведении экспериментальных и расчётных работ, анализе, интерпретации, обобщении и обсуждении полученных экспериментальных результатов.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и опубликованы в материалах международных конференций: «Научное сообщество XXI века» VII Международная научно-практическая конференция (г. Анапа, 2020 г.); VI Международная научно-практическая конференция «Наука и образование в современном мире: вызовы XXI века» (г. Нур-Султан, 2020 г.); МНК МУ "Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения", (г. Москва, 2020 г.); «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике» (г. Алматы, 2022 г.); «Международные проблемы экологии» (г. Караганда, 2023 г.).

Публикации

Основные положения диссертации отражены в 13 опубликованных работах, из них - получен 1 патент РК на изобретение, 4 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования; 2 статьи в международном научном издании, входящем в базу данных Scopus; тезисы 6 докладов на международных конференциях.

Связь задач исследований с планом научных программ

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований НАО МУК в рамках научных проектов AP09562096 «Разработка

получения нового стоматологического геля антимикробного и противокариесного действия на основе душицы обыкновенной» (договор № 256/12-2 от 15 июня 2021 г.) и АР14971364 «Разработка нового стоматологического средства на основе *Origanum vulgare* L» (договор №303-ЖГ-2-22-24 от 20 октября 2022 г.).

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на страницах 164 страниц машинописного текста, включает 38 рисунка и 43 таблицы; состоит из введения, 8 глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Список литературы включает 238 литературных источников.

1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОГО И ПРОТИВОКАРИЕСНОГО ДЕЙСТВИЙ

1.1 Научные достижения в области антимикробной активности лекарственных растений в стоматологии

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) заявила, что 80% развивающихся стран по-прежнему получают пользу от использования традиционных лекарств, полученных из лекарственных растений [10–12]. Общее оценочное количество растений составляет приблизительно 374 000 [13] по сравнению с 28 187 видами, используемых человеком [14]. ВОЗ также зафиксировала названия более 20 000 видов лекарственных растений [15] и описала лекарственные растения как один из потенциальных источников новых лекарств [16]. Более 100 стран разработали правила для приема лекарственных растений.

Существует более 1340 растений с определенной антимикробной активностью и из растений выделено более 30 000 антимикробных соединений [17]. Более того, было подсчитано, что 14–28% видов высших растений являются лекарственными и что 74% биологически активных соединений растительного происхождения были обнаружены на основе этномедицинских применений [18].

Широкое, неуместное, нерегулярное и избирательное использование антибиотиков привело к возникновению устойчивости к противомикробным препаратам, что сделало многие доступные в настоящее время лекарства неэффективными [19–21]. Эта новая тенденция вызывает обеспокоенность и рассматривается ВОЗ едва ли не самой актуальной проблемой, стоящей перед медицинской наукой [22]. Поэтому существует растущая потребность в разработке новых противомикробных агентов, способных снизить использование синтетических препаратов.

Это побудило исследователей изолировать и идентифицировать новые биологически активные химические вещества из растений для борьбы с устойчивостью микробов [23–26], также учитывая, что примерно 50% современных фармацевтических препаратов и нутрицевтиков являются натуральными продуктами и их производными [27]. Лекарственные растения дают почти неограниченный источник биоактивных соединений, и их использование в качестве антимикробных средств используется по-разному [28, 29]. Тем не менее, соединения еще не были тщательно исследованы [30]. Природные антимикробные агенты могут действовать отдельно или в сочетании с антибиотиками для усиления антимикробной активности против широкого круга микробов [31,32].

Поскольку антимикробное действие многих лекарственных растений до сих пор не изучено, исследователи все больше ориентируются на поиск быстрорастущих новых и эффективных методов лечения [33,34].

В связи с последовательным применением лекарственных средств увеличивается вероятность развития резистентности бактерий и грибков к антибиотикам. Это стало одной из проблем в лечении заболеваний. Поэтому исследователи движутся к некоторым другим альтернативам для решения этой проблемы. В наши дни они больше внимания уделяют противомикробным соединениям, полученным из растений. Известно 20 000 видов растений, обладающих антимикробными свойствами и широко используемых в фармацевтическом мире.

Фитопрепараты для наружного применения представлены маслами, каплями, мазями, растворами, пленками и суппозиториями. Наиболее широко представленной среди них лекарственной формой являются мази (58 %), далее следуют суппозитории (15%), масла составляют около 10%, растворы, капли и пленки находятся примерно в равном соотношении – 6% и по 4% соответственно. К группе «Разное» относятся такие лекарственные формы, как карандаши и пластыри, составляя около 3% [35].

Интерес представляет арсенал фитопрепаратов для применения в стоматологии в качестве противомикробных и противовоспалительных средств в виде мазей, масел, настоек, растворов и различных фитокомпозиций, применяемых в настоящее время для медицинской практики.

Использование лекарственных растений в медицинской и стоматологической практике имеет давнюю историю, и они уже давно используются во всем мире. Противовоспалительные, антибактериальные и антиоксидантные свойства растений, а также их биосовместимость объясняют растущий интерес людей к использованию растительных препаратов.

Известно, что в стоматологии применяются лекарственные травы, обладающие адаптогенными, противовоспалительными, иммуномодулирующими, седативными, вяжущими, противоопухолевыми свойствами.

Есть сотни лекарственных трав перспективных для применения в стоматологической практике, требующих клинических исследований [36-50].

Лекарственные средства растительного происхождения и препараты, содержащие в своем составе растительные компоненты, давно и успешно применяются в стоматологии. Несмотря на это, интерес к препаратам на основе лекарственного растительного сырья повышается с каждым годом. Такую тенденцию возрождения интереса к лекарственным растениям объясняют следующие недостатки синтетических лекарственных средств: токсичность, побочные действия и аллергии. По данным ВОЗ, аллергические явления, возникающие в результате применения синтетических лекарственных средств, возникают у 12-18% населения.

В современной научной медицине отвар коры дуба применяют как вяжущее средство при заболеваниях полости рта - стоматитах, пародонтозах, при кровотечениях из дёсен, тонзиллитах в виде полосканий [51]. Экспериментальные исследования показали, что прием корня имбиря стимулирует выделение слюны [52]. Рандомизированные, плацебо

контролируемые клинические исследования показали эффективность корня имбиря в лечении афтозного стоматита [53].

Клинические исследования показали, что сочетанное применение лазеротерапии и с приемом гликозидов пиона эффективно при лечении эрозивного стоматита [54].

Благодаря противовоспалительным, антибактериальным свойствам экстракты чабера широко используются при лечении периодонтитов, гингивитов. Эфирное масло чабера эффективно при лечении стоматитов [55].

Экстракты стевии губительно действуют на микроорганизмы, вызывающие кариес [56]. Исследования выявили антикариозные свойства экстрактов листьев стевии [57]. Органические кислоты цикория губительно действуют на патогенную микрофлору полости, предупреждают развитие воспалительных явлений и кариеса [58].

На основе анализа литературных данных для создания противовоспалительного стоматологического препарата для лечения стоматита, авторами подобран следующий состав компонентов: сухой экстракт листьев алоэ, ментол, натрия хлорид, натрия гидрокарбонат, натрия бензоат. по технологии получения стоматологического препарата «Дента Алоэ», а также приведены сведения по результатам качественных показателей, фармакологических исследований, данные о микробиологической чистоте разработанного препарата [59].

Сегодня более 90% школьников и значительная часть взрослых во многих частях мира имеют кариес зубов. Это указывает на необходимость совершенствования диагностических и лечебных процедур в стоматологии, особенно у детей. С другой стороны, растет злоупотребление и чрезмерное использование антибиотиков. Использование синтетических препаратов, особенно у детей, может иметь такие побочные эффекты, как осложнения со стороны печени. Исследование, проведенное с ирригационными растворами, показало, что хлоргексидин вызывает обесцвечивание зубов, создает ощущение жжения во рту и потерю вкуса. Гипохлорит натрия может вызывать аллергию и токсическое воздействие на ткани, а гидроксид кальция не может эффективно удалять бактерии из дентинных канальцев. Более того, не все люди имеют доступ к синтетическим лекарствам и таким образом, они могут использовать лекарственные травы в качестве альтернативы. Имеющиеся данные показывают, что 65–80% людей в развивающихся странах используют для лечения лекарственные растения [60].

Биопленки представляют собой сложные микробные сообщества, встроенные во внеклеточный матрикс, состоящий из белков, внеклеточной ДНК, липидов и экзополисахаридов. Биопленочный способ роста бактерий обеспечивает ряд преимуществ, одна из наиболее важных характеристик микробных биопленок заключается в том, что бактерии остаются в микросреде до тех пор, пока существуют благоприятные условия [61].

Streptococcus mutans считается наиболее кариесогенным из всех оральных стрептококков (рисунок 1). *S. mutans* способен колонизировать поверхность зубов и продуцировать большое количество вне- и внутриклеточных

полисахаридов. Этот микроорганизм также является высокоацидогенным и ацидурическим, он метаболизирует несколько слюнных гликопротеинов, таким образом, он отвечает за начальную стадию образования биопленки в ротовой полости и кариесные поражения [62].

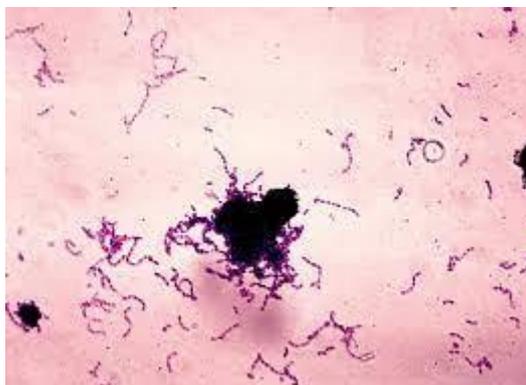


Рисунок 1 – Фотография бактерии *Streptococcus mutans* [62].

Streptococcus mutans вызывает кариес зубов, прикрепляясь к деснам и поверхностям зубов и образуя биопленку (налет). Биопленка, продуцируемая *S. mutans*, помогает бактериям и другим микробам прикрепляться к поверхностям полости рта, что приводит к таким заболеваниям, как гингивит и пародонтит. Следовательно, процветание *S. mutans* в ротовой полости может привести к осложнениям от дополнительных инфекционных микроорганизмов; к ним относятся эндокардит, пневмония, системные заболевания, такие как сердечно-сосудистые заболевания, низкая масса тела при рождении и частота преждевременных родов. Прикрепленные к биопленкам микроорганизмы более устойчивы к физическим, химическим и биологическим воздействиям, чем планктонные клетки. Поэтому важно ингибировать образование биопленки для предотвращения различных заболеваний, при которых *S. mutans* не может быть устранен. Для удаления биопленки в полости рта используются физические методы, такие как чистка зубов щеткой и зубной нитью и химические методы, такие как пероральные препараты на основе хлоргексидина. Поскольку физические методы часто оставляют остаточные микроорганизмы, желательно использовать химические методы. Большинство химических веществ, используемых в гигиене ротовой полости, обладают высокой противомикробной активностью и иногда проявляют побочные эффекты, такие как окрашивание зубов, образование зубного камня и т.д. Постоянное использование химических средств с бактерицидными свойствами также изменяет микробную флору в полости рта [63].

В последнее время растет интерес к природным соединениям, которые могут ингибировать рост бактерий или образование биопленок без таких побочных эффектов.

Таким образом, в настоящее время имеется потребность в фитопрепаратах, разрушающих биопленки. Лекарственные формы, такие мази,

гели, пленки с растительными веществами могут способствовать разрушению таких биопленок.

1.2 Противомикробные и противокариесные фитопрепараты в стоматологии

Многие натуральные продукты растительного происхождения обладают противомикробными и антибиопленочными свойствами *in vitro*. Антибиопленочные эффекты натуральных продуктов в основном зависят от следующих аспектов: ингибирование образования полимерного матрикса, подавление клеточной адгезии и прикрепления, прерывание образования внеклеточного матрикса и снижение продукции факторов вирулентности, тем самым блокируя сеть межклеточной коммуникации и развитие биопленки (рисунок 2) [64].

Высокий уровень кариеса, помимо высокой стоимости лечения, подчеркивает необходимость профилактики кариеса. По этой причине важно использование антибактериальных материалов и фторсодержащих веществ. Исследования показали, что некоторые растения могут повышать чувствительность микроорганизмов за счет использования вторичных метаболитов. Более того, некоторые из них могут ингибировать рост бактерий и выработку ими кислоты, ингибировать адгезию бактерий к зубам и ингибировать синтез экзополисахарида для предотвращения кариеса.

Одним из первых растений, обладающих кариесогенной активностью является чеснок, который считается богатым источником многих соединений с антимикробным действием. Было показано ингибирующее действие экстракта чеснока на QS. В связи с этим Bjarnsholt et al. обнаружили, что экстракт чеснока делает *Pseudomonas aeruginosa* чувствительной к тобрамицину, респираторному взрыву и фагоцитозу полиморфноядерными лейкоцитами в модели легочной инфекции у мышей [65]. Также было обнаружено, что чеснок снижает выработку факторов вирулентности и снижает выработку сигналов QS у *P. aeruginosa* у мышей [66]. Перссон и др. обнаружили, что экстракты чеснока ингибируют образование биопленок в отношении шести клинических изолятов бактерий. Более того, рациональный дизайн и биологический скрининг всех соединений из чеснока были выполнены, что привело к идентификации мощного ингибитора QS N-(гептилсульфанилацетил)-1-гомосерин лактона. Показано, что компонент прерывает передачу сигналов QS путем конкурентного ингибирования регуляторов транскрипции LuxR и LasR [67].

Ким С.В. и соавторы сообщили, что экстракты лекарственных растений *Coptis trilobus* и *Coptis chinensis* могут блокировать прилипание бактерий к поверхностям, покрытым фибронектином. Они оказывали антиадгезиновое действие на стадии адгезии образования биопленки, подавляя активность мембранного фермента сортазы, катализирующего ковалентное заякоривание поверхностных белков с пептидогликаном у грамположительных бактерий. Этилацетатная фракция и водная фракция этих двух растений были подвергнуты скринингу и этилацетатная фракция *C. trilobus* проявила самую

высокую активность в отношении подавления адгезии бактерий посредством нацеливания на сортазу [68].

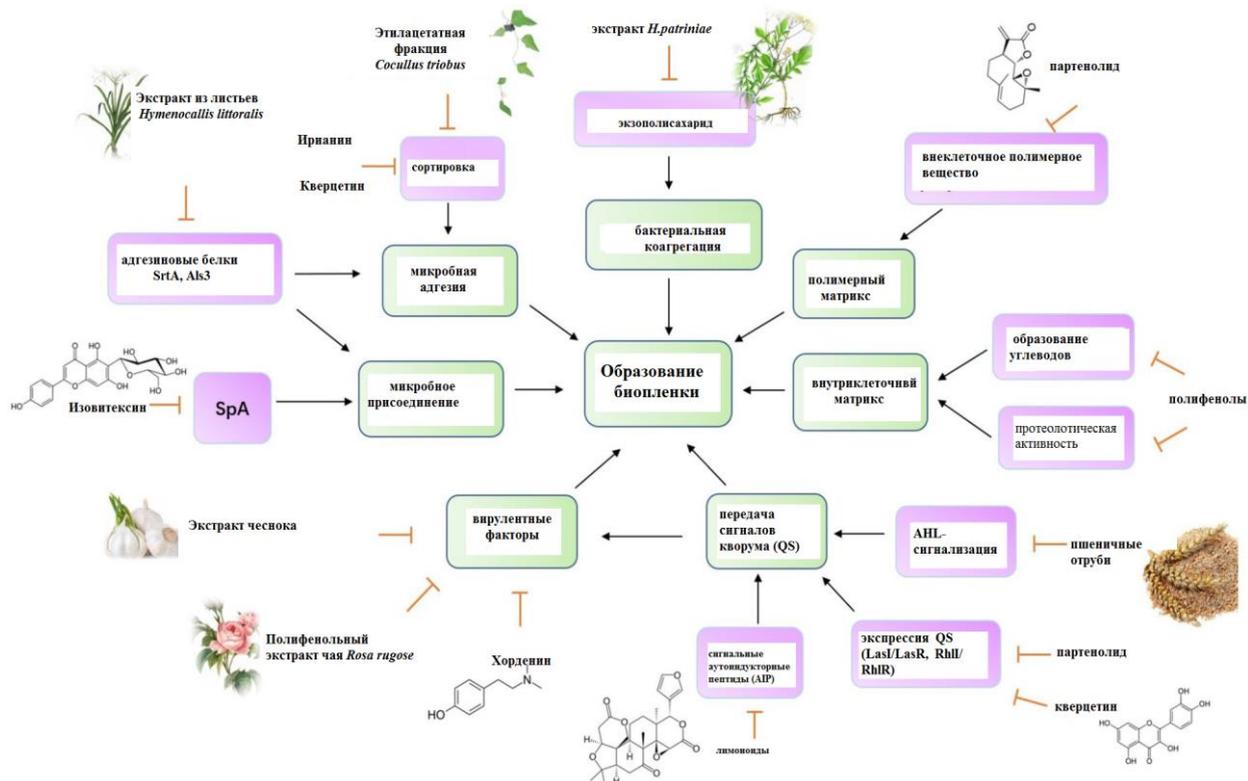


Рисунок 2 - Агенты против биопленки, полученные из природных растений и их потенциальные механизмы [64]

Плоды клюквы являются богатым источником полифенолов. В исследованиях сообщалось, что фракция клюквы, обогащенная высокомолекулярными полифенолами, ингибирует образование биопленок и предотвращает прикрепление и колонизацию патогенных микроорганизмов человека, особенно кариесогенных и периодических патогенных бактерий, в тканях хозяина [69–72]. Кроме того, компоненты клюквы влияли на глюкан-связывающие белки, активность ферментов, вызывающих разрушение внеклеточного матрикса, продукцию углеводов, бактериальную гидрофобность, протеолитическую активность и коагрегацию, которые участвуют в формировании биопленок. Потенциальные преимущества компонентов клюквы предполагают, что особенно полифенолы с высокой молекулярной массой могут служить биологически активными молекулами с многообещающими свойствами для профилактики и/или лечения заболеваний полости рта, включая кариес и пародонтит [73].

Фу и др. сконструировали систему на основе luxCDABE для обнаружения экспрессии шести ключевых генов, связанных с биопленкой, у *P. aeruginosa*. Затем с помощью этой системы было проверено 36 экстрактов трав на ингибирующие свойства в отношении этих генов. Результаты показали, что

экстракт из *Herba patriniae* проявлял значительное ингибирующее действие на большинство этих генов, связанных с биопленками, что совпадало со снижением образования биопленок и вмешательством в структуру зрелых биопленок *P. aeruginosa*. Более того, экстракт *H. patriniae* снижал выработку экзополисахаридов у *P. aeruginosa*. Эти результаты выявили потенциального кандидата для исследования новых лекарств против инфекций, связанных с биопленкой *P. aeruginosa* [74].

Кверцетин, содержащийся во многих фруктах, овощах и злаках, представляет собой растительный полифенол. Сообщалось, что он значительно ингибирует образование биопленки и выработку факторов вирулентности, включая пиоцианин, протеазу и эластазу, при более низкой концентрации по сравнению с большинством ранее описанных растительных экстрактов и веществ [75-78]. Дальнейшее исследование транскрипционных изменений, связанных с QS, показало, что уровни экспрессии LasI, LasR, RhII и RhIR, участвующих в передаче сигналов QS, были значительно снижены [79]. Кверцетин оказался эффективным ингибитором образования биопленки и факторов вирулентности у *P. aeruginosa*. Он также был идентифицирован как эффективный ингибитор SrtA, который может значительно ухудшить образование биопленки *Streptococcus pneumoniae* за счет подавления экспрессии сиаловой кислоты [80]. Антибиопленочная активность кверцетина при образовании биопленки и инфекциях, связанных с биопленкой, также была исследована на *Streptococcus mutans* и *Enterococcus faecalis* и результаты показали потенциал кверцетина в применении для антимикробной инфекционной и противокариозной терапии для здоровья человека [81, 82]. Кроме того, наночастицы, декорированные кверцетином, и микрочастицы, конъюгированные с кверцетином, показали более эффективную активность против биопленки [83], что открывает новый подход к разработке терапевтического средства для предотвращения микробных инфекций.

Azadirachta indica (масло черного тмина) снижает частоту раннего кариеса сопоставимую с хлоргексидином, уменьшая количество *Streptococcus mutans* [84]. Он обладает антибактериальными свойствами и является биосовместимым антиоксидантом. Он эффективен против *Enterococcus faecalis* и *Candida albicans* [85]. Было показано, что это растение может ингибировать рост *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis* и *Streptococcus salivarius* [86]. В другом исследовании было показано, что гель, содержащий масло черного тмина, значительно уменьшил индекс зубного налета и количество бактерий [87].

Camellia sinensis (зеленый чай) обладает противораковыми [88] антиоксидантными, противовоспалительными свойствами и является ингибитором свободных радикалов. Обнаруженные в нем флавоноиды обуславливают антибактериальную активность против кариесогенных бактерий. Miller et al. показали, что соединения этих растений, особенно простые катехины в нем отвечают за антикариесогенные свойства. Например, он оказывает антибактериальное действие на *S. mutans*, *S. salivarius* и *E. Coli* [89] ингибирует адгезию бактерий к зубу путем ингибирования

глюкозилтрансферазы и ингибирует биосинтез липких глюканов, а также фермента амилазы бактерий и человека. Некоторые исследования показали, что регулярное употребление чая может эффективно снизить заболеваемость и тяжесть кариеса зубов [90].

Куркума обладает антиоксидантным, противовоспалительным и антимутагенным действием. Ее жидкость для полоскания рта вызывает быстрое уменьшение боли. При втирании в больной зуб снимает боль. Куркума обладает сильными антибактериальными свойствами против биопленки *S. mutans* и так же эффективна, как хлоргексидин. Таким образом, она может быть эффективным средством предотвращения кариеса зубов [91].

В стоматологии мяту перечную можно применять местно для облегчения зубной боли, а также в качестве жидкости для полоскания рта для уменьшения воспаления десен. Также исследовано, что антимикробная и кариесогенная активность мяты перечной была сопоставима с препаратами сравнения [92].

Pistacia atlantica может использоваться в качестве освежителя рта, антисептика, а также доступна в виде жевательной резинки для лечения желудочно-кишечных расстройств и укачивания [93, 94]. В состав растения входят α -пинен и терпеноиды. В одном исследовании было показано, что жидкость для полоскания рта, содержащая это растение, может эффективно воздействовать на микроорганизмы десен [95]. Другое исследование показало, что экстракт этого растения может оказывать антибактериальное действие на *S. mutans* и *S. Mitis* [96].

Кариес зубов остается наиболее распространенным и дорогостоящим инфекционным заболеванием полости рта во всем мире. Для предотвращения этого заболевания, зависящего от биопленки, было использовано несколько методов, включая использование эфирных масел (ЭМ). Наиболее перспективными видами с антибактериальным потенциалом против кариесогенных бактерий являются: тысячелистник язычковый, розмарин лекарственный, криптомерия японская, кориандр посевной, гвоздичное дерево, липпия, базилик обыкновенный и т.д. В некоторых случаях основные фитохимические соединения определяют биологические свойства эфирных масел. Ментол и эвгенол считались выдающимися соединениями, демонстрирующими антибактериальный потенциал. Выявлено, что жидкость для полоскания рта с эфирным маслом *L. sidoides* (1%) продемонстрировала клиническое антимикробное действие против оральных патогенов [97].

Показано, что композиция эфирных масел *M. piperita* + *H. officinalis* обладают наиболее высоким уровнем антибактериальной активности в отношении клинических и типичных изолятов. Комбинации эфирных масел продемонстрировали более широкий спектр активности в отношении микроорганизмов, чем их компоненты, взятые по отдельности. Установлено, что *M. piperita* + *H. officinalis* обладают высокой антимикотической активностью в отношении микроскопических грибов рода *Candida*. Этот факт доказывает преимущество применения комбинаций эфирных масел по сравнению с применением их отдельных компонентов. Комбинации, показавшие высокие антибактериальные свойства в отношении рассмотренных

изолятов, могут быть использованы для изготовления средств гигиены полости рта [98].

Лекарственные средства растительного происхождения обладают разнообразными свойствами: противовоспалительными, кровоостанавливающими, антимикробными, обезболивающими, ранозаживляющими, иммуностропным, действуя, таким образом, на различные звенья патогенеза. Например, хвоя сосны может оказывать обезболивающее действие, плоды облепихи – кератопластическое, цветки ромашки – противоотечное, трава зверобоя обладает выраженным противовоспалительным эффектом, а листья шалфея являются хорошим антисептиком. Растительные препараты отличаются от других лекарственных средств еще и тем, что в их составе имеются микроэлементы, витамины, эфирные масла, биогенные вещества и др., оказывая тем самым комплексное действие [99].

Лекарственные растения можно применять как в целях профилактики, так и в комплексной терапии заболеваний пародонта. Наиболее успешно они проявляют себя в местном лечении в виде аппликаций, ротовых ванночек, лечебных повязок, ирригации, орошения и др. [100]. Так же важным свойством, влияющим на эффективность, является не только состав лекарственного средства, но и его форма. Наиболее действенными формами признаны пленки, клеи и гели, способные длительное время удерживаться на слизистой оболочке и сохранять постоянство концентрации лекарственного вещества [101].

В ходе экспериментов на животных у фитоленок «Хастапен» было выявлено мощное антиоксидантное действие за счет входящего в их состав экстракта какалии копьевидной. Из научных работ известно, что в развитие пародонтита, важную роль занимает активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижение активности антиоксидантной системы (АОС). При применении экстракта какалии копьевидной было выявлено улучшение микроциркуляции пародонта вследствие ингибирования ПОЛ и активации АОС. Изменение произошло из-за содержащейся в растении аскорбиновой кислоты, флавоноидов и др.

У полимерных пленок «Родопес», в состав которых входит растение *Rhododendron ungeronii*, был выявлен вирусоподавляющий эффект, который полностью задерживал репликацию вируса простого герпеса, не уступая при этом такому препарату, как «Зовиракс». Тем самым препарат помогает при герпетических поражениях слизистой оболочки полости рта [102].

В научных работах было отмечено антимикробное действие экстракта травы хвоща полевого жидкого и в качестве стоматологического геля против *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* [103].

Выраженным антисептическим и противомикробным эффектом против *Clostridium*, *Streptococcus* и *Bacillus*, *Helicobacter Pylori* обладает кайенский перец [104].

В зарубежной литературе описывается бактерицидные, жаропонижающие и противовоспалительные свойства корня и стебля барбариса. Его действие обусловлено содержанием в нем алкалоида берберина, также в нем присутствуют: витамин В1, бета-каротин, лютеин, зеаксантин, хром, кобальт и

цинк. Доказано его положительное действие при лечении заболеваний слизистой полости рта и пародонта [105].

Хорошими антисептическими, противовоспалительными, антиоксидантными и иммуностимулирующими свойствами обладают: трава звездчатки, чеснок и одуванчик. Одуванчик содержит биотин, кальций, холин, жиры, железо, магний, ниацин, фосфор, белки, серу, цинк и различные витамины. Чеснок на сегодняшний день используется как природный антибиотик, который хорош для борьбы с инфекциями, вызываемыми грибами или бактериями. В стоматологии его используют в виде масла, существуют и непахучие формы масла чеснока [106].

Целью исследования в работе [107] была оценка антимикробной активности экстрактов лекарственных растений в отношении известных бактериальных патогенов при кариесе зубов. Всего было задокументировано 20 видов растений (травы, кустарники и деревья), принадлежащих к 18 родам и 15 семействам. Антимикробную активность экстрактов и эфирного масла растений определяли по зонам ингибирования на рост *Streptococcus mutans* (MTCC 497) и *Lactobacillus acidophilus* (MTCC 10307) с использованием лунки агара диффузионным методом. Результаты антимикробного анализа *in vitro* доказывают, что метанол более эффективен при экстракции фитохимических веществ. Метанольные экстракты *Nigella sativa*, *Psidium guajava* и *Syzygium aromaticum* были наиболее эффективными среди всех 20 образцов растений и обладали мощной ингибирующей активностью в отношении обоих возбудителей кариеса зубов с минимальной ингибирующей концентрацией 0,2 мг/мл. Метанольный экстракт семян *N. sativa* оказался более эффективным при концентрации 22,3 ммоль/л., зона ингибирования при 0,2 мг/мл против *S. mutans* (MTCC 497), тогда как *L. acidophilus* (MTCC 10307) был более чувствительным к метанольному экстракту *S. aromaticum* bud в зоне ингибирования 11,3 мм при концентрации 0,1 мг/мл. Экстракт эфирного масла из растений также обладает сильным антимикробным действием в отношении обоих тест-патогенов с минимальной ингибирующей концентрацией диапазон 0,05–0,16 мг/мл. Экстракты растений, демонстрирующие антимикробную активность с минимальной ингибирующей концентрацией, демонстрируют эффективность растительные продукты, которые можно рассматривать как хороший индикатор перспективных растений для открытия новых антимикробных агентов против возбудителей кариеса зубов. Результаты этого исследования позволяют разработать новые составы из множества трав для лечения кариеса зубов.

Клинические бактериальные изоляты, образующие биопленку были выделены из образцов пародонта и кариеса зубов и идентифицированы как *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans* и *Staphylococcus aureus*. Среди идентифицированных видов бактерий *S. aureus* и *S. mutans* продемонстрировали сильную способность к образованию биопленок. Другие изолированные бактерии, *Streptococcus sanguis*, *S. salivarius*, показали умеренное образование биопленок. Эти патогены были подвергнуты продукции внеклеточных полисахаридов (EPS) в питательных веществах: бульонная среда

и штамм *S. aureus* синтезировал больше EPS ($610 \pm 11,2$ мг/мл), чем *S. sanguis* ($480 \pm 5,8$ мг/мл). Было обнаружено, что продукция EPS была меньше у *S. salivarius* ($52 \pm 3,8$ мг). Растворитель экстракта луковичицы *A. sativum* показал такие фитохимические вещества, как углеводы, общий белок, алкалоиды, сапонины, флавоноиды, дубильные вещества и стероиды. Растворитель экстракта луковичицы *A. sativum* показал широкий диапазон активности против выбранных стоматологических патогенов. Различие в антибактериальной активности экстрактов выявило различия в растворимости фитохимических веществ в органических растворителях. Этаноловый экстракт проявлял высокую активность в отношении *S. aureus* (25 ± 2 мм). Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) сырых луковичиц чеснока варьировалась в широких пределах и это ясно показало, что бактерии проявляют разный уровень чувствительности к вторичным метаболитам. Значение МИК варьировалось от 20 ± 2 мг / мл до 120 ± 6 мг / мл, а значение минимальной бактерицидной концентрации (МБК) варьировалось от 60 ± 5 мг / л до 215 ± 7 мг/мл. В заключение, луковичица *A. sativum* может быть эффективно использована для лечения инфекций пародонта и кариеса зубов [108].

Кариес зубов — это многофакторное заболевание полости рта, требующее наличия восприимчивого хозяина, кариесогенных микроорганизмов и подходящего субстрата. Кариес распространен по всему миру, несмотря на доступность бесчисленных профилактических средств, включая зубную пасту с фтором и зубные герметики. Было приложено много усилий, чтобы изолировать чисто природные продукты для медицинского применения. Флавоноиды — это биоактивные полифенольные соединения, обладающие многомерными эффектами, такими как антибактериальное действие. Методы: настоящее исследование направлено на характеристику антибактериальной и противогрибковой активности различных флавоноидов (апигенин, катехин, лютеолин, морин, мирицетин, нарингин, кверцетин и рутин). Использовали девять штаммов, присутствующих в зубном налете: *Agreggatibacter actinomycetemcomitans*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus*, штаммы *Candanguidaralis* и *Streptococancus*, а также грибковые штаммы *Streptococcus oralis* и *Streptococancus* ss. Результаты показали, что лютеолин, нарингин, кверцетин и рутин эффективно подавляли рост бактерий и грибков. Однако самым эффективным флавоноидом был морин. Заключение: можно сделать вывод, что флавоноиды проявляют бактериостатическое действие на все протестированные бактерии и грибки [109].

Таким образом, средства природного происхождения достаточно широко применяются в стоматологии, что связано с комплексностью и эффективностью их действия при лечении воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта. Большое значение при этом имеет доступность этих средств, простота применения и отсутствие побочных эффектов.

1.3 Мягкие лекарственные формы с растительными компонентами противомикробного и противокариесного действия

Как показывает анализ ассортимента наружных лекарственных форм фитопрепаратов, перспективным для лечения различных ран являются новые разработки в области технологии лекарств с использованием эфирных масел растений.

Однако, создание лекарственных форм наружного применения, не позволяет достигать системного эффекта, а только местно, поэтому необходимо проанализировать ассортимент мягких лекарственных форм в виде суппозиторий с растительными компонентами в своем составе, применяемых в качестве противовоспалительных и ранозаживляющих средств.

Лекарственные растения обладают лечебными свойствами благодаря наличию в них различных сложных химических веществ разного состава, которые обнаруживаются в виде вторичных растительных метаболитов в одной или нескольких частях этих растений. *Mangifera indica* Linn — вид манго из семейства *Anacardiaceae*. Эмульсия типа вода в масле показала лучшую рецептуру по сравнению мазевой и кремовой основами в различной концентрации 1%, 5% и 10%. Приготовленные мазь и крем подвергали оценке однородности массы, измерению рН, вязкости, растекаемости, изучению острого раздражения кожи, исследованию стабильности и противомикробной активности [110].

Устойчивость к антибиотикам и побочные эффекты лекарств являются актуальными проблемами человечества. Поэтому исследования, направленные на поиск и создание новых препаратов с антибиотической активностью из растений, имеют большое значение. Авторы [111] сформулировали состав мази, которая содержит экстракты *Cetraria islandica* (исландский мох), сфагнум и прополис для лечения гнойных ран и определяли его рН и биодоступность *in vivo*. Антимикробная активность мази изучали на экспериментальных животных. Для анализа морфологических особенностей раневого процесса были сформированы три группы животных: 1-я группа контрольная без лечения; 2 группа - обработка раны мазью Левомеколь; опытная группа 3, лечение раной мазью, состоящей из исландского мха, сфагнума и прополиса. Каждая группа включала 10 животных. На липофильной основе разработанная мазь для лечения гнойных ран проявила антибактериальную активность в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов и ее можно использовать в 1 и 2 фазах раневого процесса. Имеет более выраженный терапевтический эффект по сравнению с мазью Левомеколь и способствует более раннему регенерации.

Высушенное растительное сырье *E. glandulosum* отдельно экстрагировали спиртом, этилацетатом и хлороформом в Сокслете. Эти три различных типа экстрактов использовали для приготовления мази и оценивали по фитохимическим показателям, рН, однородности, растекаемости, экструдированности тубы, стабильности и противомикробной активности. Активность приготовленных мазей оценивали в отношении *Escherichia coli* и

Bacillus subtilis. Приготовленные составы показали хорошую активность как против *B. subtilis*, так и против *E. Coli* и было обнаружено, что составы с этилацетатным, спиртовым и хлороформным экстрактами проявляли большую зону ингибирования по сравнению со всеми другими препаратами [112].

На основе CO₂-экстракта *Carthamus tinctorius* L разработана антимикробная мазь, состоящая из подсолнечного масла, эфирного масла мяты, Т-2, воды очищенной. Доклинические испытания на животных показали безвредность и переносимость [113].

Список препаратов, применяемых в стоматологической практике, на сегодняшний день, довольно многообразен. В государственном реестре лекарственных средств РК всего более 30 стоматологических препаратов, из них около 10 - гели.

В состав гелей входят различные гелеобразователи (в основном, производные целлюлозы), пластификаторы (пропиленгликоль или глицерин), консерванты, вспомогательные вещества, ароматизаторы. Активными компонентами таких гелей являются гидрохлорид лидокаина, экстракты лекарственных растений (чаще экстракт ромашки аптечной) и хлоргексидин.

Например, стоматологический гель «Дентинокс Гель Н» для местного применения содержит настойку из ромашки аптечной, в качестве гелеобразователя используется карбомер, в качестве пластификатора, пропиленгликоль, в качестве подсластителей: натрия - сахарин, сорбитол жидкий ксилит.

Стоматологический гель «Камистад» содержит в достаточном количестве до 20 граммов экстракта ромашки аптечной и в составе в качестве гелеобразователя используется карбомер (карбопол, редкосшитый полимер акриловой кислоты). Содержит также в качестве действующего вещества гидрохлорид лидокаина [114].

Целью другого исследования является разработка зубного геля с использованием экстракта листьев алоэ вера. В многочисленных клинических исследованиях алоэ вера использовалось в стоматологии для ранозаживляющего эффекта, гингивита, борьбы с зубным налетом и лечения поражений слизистой оболочки полости рта. Состав зубного геля с алоэ вера, оцененный физическим осмотром: цвет желтовато-коричневый, внешний вид однородный, гладкая природа, прозрачность-полупрозрачность и относительная плотность-10,5, отсутствие микробного роста в образце, рН-7,5, вязкость-3100 сП, экструдированность в процентах-91,33, растекаемость-6,5 см/сек. При этом, наблюдается хорошая стабильность. Оценка противомикробного действия против *Staphylococcus aureus* показала, что приготовленный зубной гель с алоэ вера проявлял заметную активность с ЗОИ 19,5 мм при МИС 25 мкг/мл. Результат этого исследования, очевидно, показал, что натуральное растение алоэ вера, используемое для приготовления зубного геля, может быть новым подходом к экономичному производству стоматологических средств с минимальным побочным эффектом, чем синтетический состав и хорошим потенциалом в будущем для стоматологических исследований натуральных средств [115].

Авторами представлен травяной пероральный гель, содержащий экстракты порошкообразных листьев *Psidium guajava* Linn и корневищ *Curcuma longa* Linn для лечения язвы во рту. Традиционное медицинское исследование является неотъемлемой частью культуры и интерпретации здоровья коренными народами почти во всем мире. Листья гуавы обычно используются для лечения нескольких заболеваний, таких как ревматизм, диарея, сахарный диабет, раневая боль в горле, кашель, а также обладают хорошей антимикробной, противогрибковой и противораковой активностью. Гуава содержит некоторые важные фитоконпоненты, такие как дубильные вещества, тритерпены, флавоноиды: кверцетин, пентациклические тритерпеноиды: гуаяновая кислота, сапонины, каротиноиды, лектины, лейкоцианидин, эллаговая кислота, амритозид, бетаситостерол, уваол, олеаноловая кислота и урсоловая кислота, в то время как куркума обладает противовоспалительным, антибактериальная активность, вирулицидные, антимуутагенные, антиоксидантные свойства. Куркума содержит большое разнообразие фитохимических веществ, таких как куркумин, деметоксикуркумин, эвгенол, дубильные вещества, алкалоиды, сапонины, терпеноиды и куркумол. Травяной гель для перорального применения был приготовлен с использованием экстракта листьев гуавы, экстракта корневища куркумы, карбопола 934, пропиленгликоля, метилпарабена, пропилпарабена, триэтноламина и необходимого количества дистиллированной воды. Триэтноламин добавляли по каплям для поддержания pH (6,7-7,2) слизистой оболочки полости рта. Определяли физико-химические параметры составов, такие как pH, растекаемость, вязкость, экструдированность, прочность на гелеобразование и противогрибковую активность. Результаты показали, что оптимизированный травяной пероральный состав, содержащий экстракт листьев гуавы и экстракт корневищ куркумы, показывает, что все физико-химические параметры соответствуют нормальному диапазону. Противогрибковое исследование препарата показало превосходную эффективность против *Candida albicans*. Разработанный пероральный состав на основе трав оказался стабильным, безопасным и эффективным для лечения язвы во рту [116].

Кроме того, в исследовании Phaechamud et al. [117] успешно использовали масло перечной мяты для изменения высвобождения доксицилина из образовавшихся *in situ* гелевых систем с помощью Eudragit RS. Вышеуказанные исследования демонстрируют современный тренд на разработку инновационных лекарственных форм с использованием растительного сырья.

Байкалин, флавоноид с ценными свойствами получают из корня и используют для лечения периодонтита. Благодаря своим антибактериальным и противогрибковым свойствам его можно использовать для лечения периодонтита в виде гелей для полости рта и полосканий. *S. baicalensis* обладает сильной антибактериальной активностью в отношении оральных патогенов, включая *Streptococcus salivarius* или *Bacteroides gingivalis* [118].

Экстракт граната в форме геля, используемый в дополнение к механической очистке, проявляет активность против гингивита, измеряемую индексом капиллярного кровотечения [119].

Дополнительная местная терапия экстрактом с гелем зеленого чая уменьшает воспаление после 4 недель ежедневного использования [120].

Алоэ — растение, принадлежащее к семейству *Asphodelaceae*. В листьях присутствуют следующие потенциально активные соединения: витамины, растворимые в воде и липидах, сложные или простые полисахариды, особенно ацеманнан — ацелированный глюкоманнан, смесь полимеров различной длины, минеральные вещества, органические кислоты и фенольные соединения [121,122]. Результаты клинических исследований подтвердили антимикробную активность в отношении различных пародонтопатогенов — *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Clostridium bacilli*, *Streptococcus mutans* и *Staphylococcus aureus*. Эффективность была аналогична офлоксацину (5 мкг) и ципрофлоксацину (30 мкг) [123].

Анализировали эффективность экстракта алоэ вера в различных составах: зубная паста, жидкость для полоскания рта и гель, включая способы получения экстрактов. Бхат и др. [124] исследовали нанесение геля с алоэ вера и без него. Результаты подтвердили, что пероральное применение геля улучшило состояние полости рта пациента. Гель кажется более эффективным. Могаддам и др. [125] провели одиночное слепое клиническое исследование, которое подтвердило, что дополнение к скейлингу улучшило клинические параметры, такие как индекс зубного налета, индекс десны и глубину зондирования. Эффективность поддесневого геля алоэ вера была сравнима с 1% орнидазолом, 0,25% хлоргексидином, глюконатом (гель Ornigreat™). Точно так же влияние зубной пасты с алоэ вера на индекс зубного налета было таким же, как и у зубной пасты с фтором, а ее эффективность была сравнима с хлоргексидином. Точно так же Penmetsa et al. показали, что жидкость для полоскания рта *Ocimum Santum*, жидкость для полоскания рта с алоэ вера и жидкость для полоскания рта с хлоргексидином одинаково эффективны в уменьшении зубного налета, десен и кровотечения с интервалом в 30 дней [126].

Было доказано, что жидкость для полоскания рта с алоэ вера так же эффективна в отношении 4-дневного образования налета, как и 0,2% хлоргексидином [127-129]. Это улучшило индекс кровотечения, индекс зубного налета, глубину зондирования и уровень клинического прикрепления у пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как сахарный диабет 2 типа и хронический пародонтит [130].

Гель, содержащий 10 % эфирного масла *Lippia sidoides*, значительно уменьшил зубной налет и гингивит после трех месяцев лечения, как и жидкость для полоскания рта с хлоргексидином [131].

Ботельо и др. исследовали наногель тимола (1,2 мг/г), содержащий *Lippia sidoides* при остром пародонтите у крыс. Лечение наногелем уменьшило как поражения, так и активность миелопероксидазы в ткани десны [132].

Текущие данные подтверждают, что использование гидрогелей в качестве дополнительной терапии для улучшения заживления пародонта дает

многообещающие результаты [133–135]. В дополнение к биосовместимости и биобезопасности растений биоматериалы обычно ассоциируются с более низкой стоимостью, лучшим профилем безопасности и убедительные доказательства могут использоваться для замены обычных методов лечения или адьювантов, повышая их эффективность.

Выпущены растительные препараты, доступные в Европейском союзе и зарегистрированные как безрецептурные лекарства для лечения гингивита и пародонтита. Доступность этих препаратов (гель *Aperisan*® на основе 20% экстракта *Salvia officinalis* L. (Германия); гель *Baikadent*® комплекс флавоноидов из корней *Scutellaria baicalensis* (Польша); гель *Kamistad*® на основе экстракта *Matricaria recutita* L. и гидрохлорида лидокаина (Германия); гель *Mucosit*® на основе экстрактов *Matricaria recutita* L., *Calendula officinalis* L., *Tussilago farfara*, *Salvia officinalis* L., *Thymus* spp., эфирных масел мяты и ромашки (Польша) и тот факт, что они широко используются, подтверждают интерес к использованию фитопрепаратов в лечении стоматологических заболеваний.

Авторами произведен подбор вспомогательных веществ, разработан состав и технология производства нового стоматологического геля «Матрипин-Дент». Наилучшими реологическими свойствами обладает гелевая основа рецепта №1, включающая сумму флавоноидов почек *Populus balsamifera* L. 5%, сумму терпеноидов *Matricaria chamomilla* L. 1%, ментол 0,1 г, вспомогательные ингредиенты - смеси полимеров полиэтиленоксида-400 и полиэтиленоксида-1500 в соотношении (7: 3). Технологический процесс производства стоматологического геля «Матрипин-Дент» состоит из плавления основы, введения в основу лекарственных веществ, гомогенизации, приготовленной гель, расфасовка в тубы по 30 г, маркировка, упаковка их во вторичную тару.

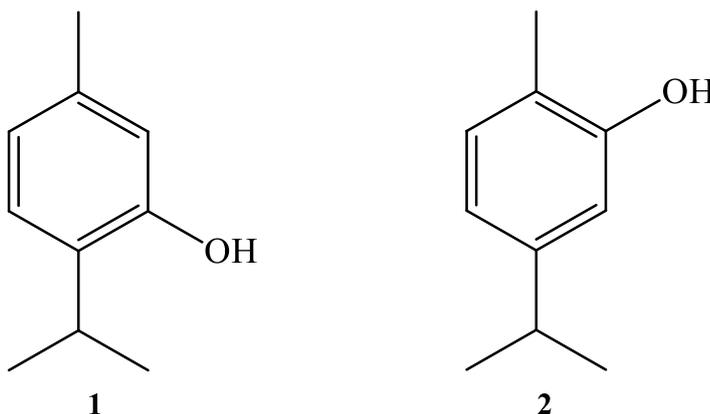
Гель готовили следующим образом: расчетное количество порошка полиэтиленоксида-1500 вводили в производственную емкость реактора. Навеска полиэтиленгликоля-400 добавляли к расплавленной основе. Ингредиенты тщательно перемешивали с помощью высокоскоростной мешалки-гомогенизатора, скорость мешалки 50 об / мин, продолжительность процесса перемешивания 10 мин. В расплавленную основу вводили сумму флавоноидов *Populus balsamifera* L. и сумму терпеноидов *Matricaria chamomilla* L. Гель гомогенизировали 20 мин. [136].

Использование новых препаратов, таких как вышеупомянутые новые растительные материалы, является стимулом для разработки инновационных мягких лекарственных форм, необходимых лечения стоматологических заболеваний.

1.4 Химические и фармакологические свойства эфирного масла душицы обыкновенной

1.4.1 Компонентный состав эфирного масла душицы обыкновенной

Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) — это травянистое растение, произрастающее в средиземноморских регионах, которое используется в лечебных целях благодаря своим антимикробным, антиоксидантным и противогрибковым свойствам. В частности, эфирное масло этого растения извлекают для использования в основном в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности. Основные компоненты – монотерпеновые фенолы тимол (1) и карвакрол (2) являются безопасными соединениями, отвечающие за антимикробные свойства.



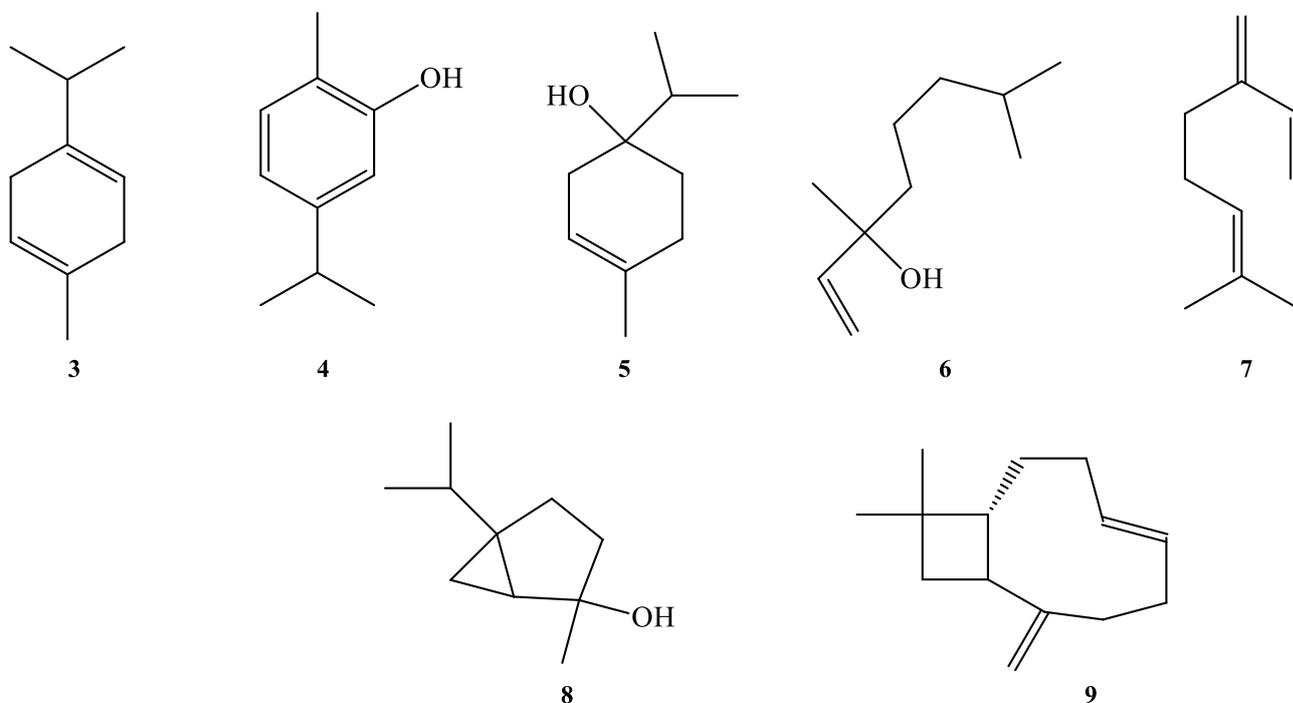
Карвакрол обладает широким спектром биологической активности, предположительно полезной для клинического применения, такой как антимикробная, антиоксидантная и противораковая активность. Антимикробная активность карвакрола выше, чем у других летучих соединений, присутствующих в эфирных маслах, благодаря наличию свободной гидроксильной группы, гидрофобности и фенольной части. Он особенно эффективен против пищевых патогенов, включая *Escherichia coli*, *Salmonella* и *Bacillus cereus*.

Карвакрол и тимол могут ингибировать рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Эти соединения обладают противогрибковым и антибиопленочным действием. Тимол и карвакрол также могут применяться в качестве альтернативного противомикробного средства против устойчивых к антибиотикам патогенных бактерий. Таким образом, тимол и карвакрол рекомендуются для потенциального медицинского применения.

Большое разнообразие растений известно и ценится за содержание в них эфирных масел. Виды душиц относятся к числу наиболее широко используемых. *Origanum* — это название, используемое для обозначения большого разнообразия растений, которые разделяют специфический вкус и запах. Не менее 61 вида и 17 родов, относящихся к шести различным ботаническим семьям известны как *Origanum* [137].

Состав эфирных масел душиц тщательно изучен. Эфирные масла душиц представляют собой очень сложные смеси соединений, в которых основными составляющими являются терпены, обычно моно- и сесквитерпены. Основными

терпенами, идентифицированными в различных видах душиц, являются карвакрол (2), тимол (1), γ -терпинен (3) и *n*-цимол (4); в то время как терпинен-4-ол (5), линалоол (6), β -мирцен (7), транс-сабиненгидрат (8) и β -кариофиллен (9) также присутствуют. Доля этих и других компонентов в эфирных маслах душиц в пределах одного и того же вида определяет хемотип. Как правило, хемотип называют по основному компоненту эфирного масла, например, карвакрол, тимол, β -цитронеллол, 1,8-цинеол и т.д. Например, Lukas et al. [138] определено три хемотипа *O. vulgare* по соотношению сумул-соединений, сабинилсоединений и линалоол/линалилацетат в экстрактах 502 отдельных растений из 17 стран и 51 популяции. С другой стороны, Гонсалес-Фуэнтес и соавт. [139] сообщили о двух хемотипах *L. graveolens*, собранных из два разных региона. Эти авторы обнаружили один хемотип, богатый карвакролом и тимолом (дикий тип), в то время как другой (культивируемый тип) показал меньшее содержание этих терпенов.



Также важно отметить, что состав и концентрация соединений эфирных масел душиц обычно варьируются из-за большого разнообразия факторов, таких как вредители, почвенные условия, урожай сезона, географического положения, климатических и произрастающих условий [140–148]. Метод сушки душиц, метод экстракции и анатомическая часть растения, используемого для экстракции, также влияют на выход и состав эфирного масла. Например, Новак и др. [149] изучил влияние сушки температуры на содержание эфирного масла в *O. vulgare ssp.* Были применены естественная (≈ 22 °C) и термостатированная сушка (30, 40 и 45 °C). Было обнаружено, что при применении 40°C или 45°C в течение в процессе сушки можно получить большее количество эфирных масел, 4,96 и 5,09 мл/100 г соответственно, чем при использовании естественной сушки (4,46 мл/100 г) или 30 °C (4,16 мл/100 г). Значительное

сокращение содержания эфирного масла душицы ожидалось при использовании более высоких температур сушки; тем не менее, авторы упомянули, что они использовали относительно низкие температуры, чтобы избежать потери эфирных масел. С другой стороны, Фигиль и др. [150] оценили влияние различных методов сушки на концентрацию эфирных масел польской душицы обыкновенной. Испытывались следующие методы:

- конвективная сушка при 60 °С,
- вакуумно-микроволновая сушка (360 Вт)
- сочетание конвективной предварительной сушки и вакуумно-микроволновой финишной сушки.

Общая концентрация эфирных масел, извлеченных из свежей душицы (33,0 г/кг), значительно снизилась независимо от используемого метода. Однако, при вакуумно-микроволновом способе сушки потери эфирного масла душицы были меньше (27,9 мг/кг), если сравнивать с конвективной (10,2 г/кг) и комбинированной сушкой (13,1 г/кг). Авторы ссылались на воздействие летучих соединений на горячий воздух в течение длительного времени, окисление этих соединений из-за присутствия кислорода и взаимодействия летучих веществ с водой как основного фактора, влияющего на потерю эфирного масла у *O. vulgare*. Авторы также отмечают, что концентрация эфирных масел влияет на метод сушки, так же, как и на качество аромата высушенного образца. Поэтому важно отметить, что на состав и концентрацию соединений эфирных масел душицы обычно варьируются из-за большого разнообразия факторов, таких как виды, вредители, почвенные условия, сезон сбора урожая, географическое положение, климатические условия и условия произрастания. Поэтому вакуум-микроволновая сушка рекомендуется для *O. vulgare*, чтобы сохранить характерные свежие и зеленые ноты этого орегано. В более позднем исследовании Calín-Sánchez et al. [151] оценили эффект трех методов сушки (конвективная сушка, вакуумно-микроволновая сушка и комбинация конвективных предварительная сушка и финишная вакуумно-микроволновая сушка) на летучих соединениях *O. majorana*. Общая концентрация эфирных масел, извлеченных из свежего орегано (33,0 г/кг), значительно снизилась независимо от используемого метода. Однако, при вакуумно-микроволновом способе сушки потери эфирного масла душицы были меньше. (27,9 мг/кг) при сравнении с конвективной (10,2 г/кг) и комбинированной сушкой (13,1 г/кг). Авторы рекомендуют использовать вакуумную сушку при 240 Вт или комбинацию конвективной предварительной сушки (50 °С) и вакуумно-микроволновая сушка (240 Вт), поэтому орегано может сохранить содержание эфирных масел и свойства аромата. Что касается техники экстракции, Sözmen et al. [152] исследовали химический состав эфирных масел, полученных из *O. bilgeri* двумя экстракционными методами: гидродистилляцией и микроволновая экстракция без растворителей. Выход экстрагированных эфирных масел был выше при использовании микроволнового излучения (0,57%), чем при использовании гидродистилляции (0,54%). Содержание карвакрола в ЭМ *O. bilgeri* составлял 90,2% при использовании экстракции без растворителя, тогда как при использовании гидродистилляции содержание этого монотерпена составило 84,3%. С другой

стороны, содержание *n*-цимола было выше при экстракции гидродистилляцией (5,85%), чем при экстракции без растворителя (3,40%). Авторы отмечают, что эфирные масла, выделенные из *O. bilgeri* с помощью микроволновой экстракции без растворителя, обеспечивают преимущества перед методом гидродистилляции: более высокий выход экстракции, более короткая экстракция время и более высокое содержание карвакрола. Другие исследования о влиянии условий экстракции или методы определения выхода, состава и биологической активности эфирного масла душицы разработаны Hashemi et al. [153], Желязков и др. [154] и Stamenic et al. [155]. Что касается части растения, Nan et al. [156] изучал химический состав эфирных масел, полученных из листьев-цветков, стеблей и корней *O. vulgare* L. Суммарно 37 соединений были идентифицированы в маслах листьев и цветов, 11 — в маслах стеблей и 29 — в корнях. масла. Карвакрол, тимол и кариофиллен обнаружены в эфирных маслах трех частей душицы, тем не менее их содержание было различным. Кроме того, в листьях и цветках обнаружен спатуленол и валенцен в корнях.

Эфирное масло *O. vulgare* — отличный источник моноциклических монотерпенов (тимола, γ -терпинена, карвакрола и *n*-цимола), ациклических монотерпенов (гераниола, линалилацетата, линалоола и β -мирцена) и бициклических монотерпеновы (сабиниловых соединений) и сесквитерпеноидов (β -бисаболена, β -кариофиллена, спатуленола и гермакрена D) в зависимости от хемотипа. Исследования показали, что подвиды, выращенные в районы северного Средиземноморья, являются плохими источниками летучих веществ (со сложным составом фенольных монотерпеноидов, ациклических соединений, соединений камфанового типа, сабиниловых соединений и большого количества сесквитерпенов); тогда как те, что выращены в южных районах обогащены ЭО с фенольными монотерпеноидами, в основном карвакрол или тимол, которые могут составлять до 70% от общего количества эфирного масла. Кроме того, γ -терпинен и *n*-цимен обнаружены в значительных количествах с различной концентрацией, относимой к обратной связи с карвакролом (γ -терпинен превращается при автоокислении в *n*-цимол и впоследствии превращается в карвакрол путем гидроксирования) [157, 158].

Эфирные масла четырех дикорастущих *O. vulgare* из Кумаон (Уттаракханд, Индия) показало наличие *n*-цимола (6,7-9,8%), γ -терпинена (12,4-14,0%), тимола (29,7-35,1%) и карвакрола (12,4-20,9%) (хемотип I), а масло из деревни Килбери и Руши (хемотип II) показал наличие линалоола (6,7-9,7%), борнилацетата (12,6-9,7%) β -кариофиллена (10,5-13,8%) и гермакрена D (6,3-11,3%) в качестве основных составляющих [159]. Эфирные масла, полученные из шести различных фенофаз *O. vulgare*, выращенные в районе Кумаон штата Уттаракханд, Индия исследованы методами ГХ и ГХ-МС. Основными компонентами масел были представлены как тимол (40,9-63,4%), *n*-цимол, (5,1-25,9%), γ -терпинен (1,4-20,1%), бициклогермакрин (0,2-6,1%), терпинен-4-ол (3,5-5,9%), α -пинен (1,6-3,1%), 1-октен-3-ол (1,4-2,7%), α -терпинен (1,0-2,2%), карвакрол (<0,1-2,1%), β -кариофиллен (0,5-2,0%) и β -мирцен (1,2-1,9%). Тимол,

терпинен-4-ол, 3-октанол, α -пинен, β -пинен, 1,8-цинеол, α -кубебен и (E)- β -osimene обнаружены во время полного сезона цветения. Исследование показало, что стадия растения оказывает значительное влияние на содержание эфирного масла и состав *O. vulgare*, выращенного в холмистых тропях Северной Индии [160]. В эфирных маслах, полученных из цветов, листьев и стеблей *O. vulgare*, произрастающих в диком виде в провинции Ардебиль (северо-запад Ирана) был идентифицирован β -кариофиллен является основным компонентом всех трех масел (48,1%, 50,1% и 60,2% соответственно). Другие основные компоненты характеризовались 1,8-цинеолом (11,6%), α -пиненом (6,9%) и γ -кадином (4,8%). В эфирном масле *O. vulgare*, произрастающем в диком виде в Коджуре (Северный Иран) обнаружено наличие линалилацетата, сабинена, γ -терпинена, транс-оцимена, и цис-оцимен и низкий процент фенольных монотерпеноидов (тимола и карвакрола) вместе с сесквитерпеноидной (44%) фракцией β -кариофиллена, кариофиллен оксида, гермакрена D и γ -элемена [161].

Таким образом, в зависимости от хемотипа эфирное масло душицы обыкновенной содержит различный химический состав, в основном, обогащенный такими монотерпенами, как 1,8-цинеол, тимол, карвакрол и т.д.

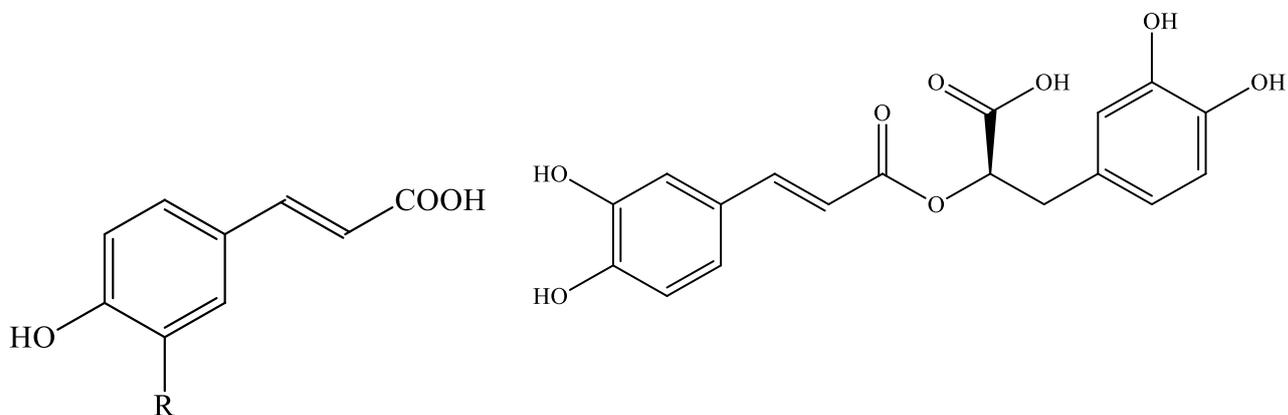
1.4.2 Химический состав полярных фракций душицы обыкновенной

Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) является богатым источником биологически активных компонентов, таких как фенольные соединения.

Фенольные соединения выделены из различных видов *O. vulgare* из различных стран: Италия, Греция, Сербия, Египет, Пакистан, Китай, Индия, Ирак, Македония [162].

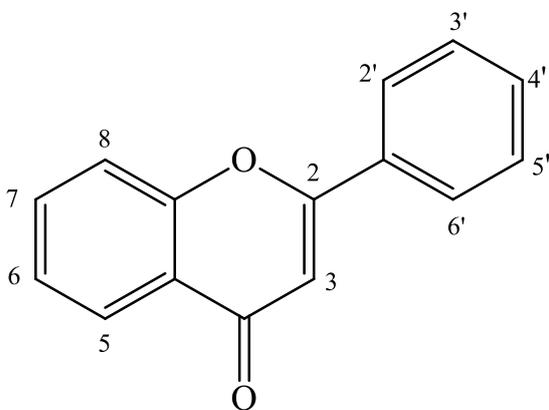
Фенольные соединения были выделены и охарактеризованы как протокатехиновая кислота и его фенилгликозид, кумаровая (3), кофейная (4), феруловая (5) и розмариновая (6) кислоты; и фенольное производное розмариновой кислоты выделен из метанольного экстрактов и токоферола гомологи, выделенные из дихлорэтанового экстракта душицы обыкновенной. Помимо основных компонентов апигенина (7), лютеолина (8), сальвагинин, цирсимартин, диосметин, десметоксицентауридин, 5-гидрокси-6,7,3',4'-тетраметокси-апигенин, апигенин 7-оглюкозид, лютеолин 7-О-глюкозид, лютеолин 7-О-глюкозид-6''- метилового эфира были выделены два новых флавоноида, в минорной концентрации и идентифицирован как лютеолин 7-О- α -L-рамнозид-4'-О- β -D-глюкозид были выделены из метанольного экстракта душицы обыкновенной. Основные фенольные кислоты были идентифицированы как кофейная, кумаровая, феруловая и нео-хлорогеновая, при этом преобладает флавоноиды охарактеризованы как кверцетин (9), лютеолин, апигенин, кемпферол (10) и изорамнетин (11). Производное дигидробензодиоксана, оригалигнанол, вместе с девять полифенольных соединений, сальвианоловая кислота А, сальвианоловая кислота С, литоспермовая кислота, апигенин 7-О- β -D-глюкуронид, апигенин 7-О- β -D-(6 β -метил) глюкуронид, лютеолин, лютеолин 7-О- β -D-глюкопиранозид, лютеолин

7-O- β -D-глюкуронид и 7-O- β -D-ксилопиранозид лютеолина выделяли из водной спиртовой экстракт надземных частей *O. vulgare*. Флавоноидные компоненты были выделены из *O. vulgare* и охарактеризованы как апигенин, эриодиктиол, таксифолин и дигидрокемпферол и идентифицированы апигенин и лютеолин (в незначительных количествах) в ацетоновых экстрактах греческого орегано (*O. vulgare ssp. hirtum*) [163-164].

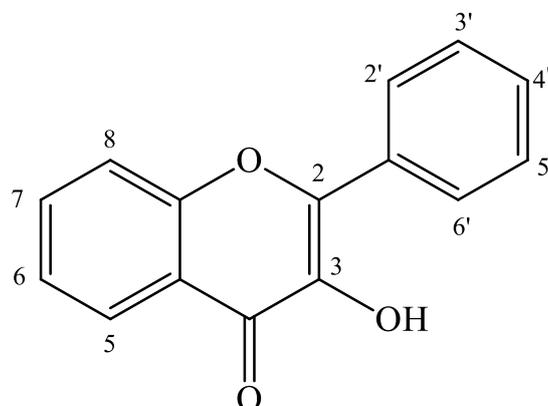


- (3) – кумариновая кислота (R=H)
 (4) – кофеиновая кислота (R=OH)
 (5) – феруловая кислота (R=OCH₃)

(6) – розмариновая кислота



- (7) - апигенин (4',5,6=OH);
 (8) - лютеолин (3',4',5,7=OH)



- (9) – кверцетин (3',4',5,7=OH)
 (10) - кемпферол (4',5,7=OH)

(11) – изорамнетин (4',5,7=OH; 3'=OCH₃)

Розмариновая кислота, лютеолин, лютеолингликозид, апигенин, апигенинацетил-дигликозид и диосметин-ацетил-глюкуронид были зарегистрированы. Лютеолин, апигенин, лютеолин 7-O- β -D-глюкуронид, апигенин 7-O- β -D-глюкозид (космосиин) были выделены из надземных частей *O. vulgare*. на основе биоанализа выделение метанольного экстракта листьев *O. vulgare* дало два производных эфира протокатеховой кислоты, ориганол А и ориганол В вместе с урсоловой кислотой, олеаноловой кислотой, β -ситостеролом и триаконтанол [165, 166].

Kocić-Tanackov et al. [167], сообщили о наличии олеаноловой, урсоловой, кофейной (9), розмариновой (11), литосперминовой кислоты, флавоноидов, гидрохинонов, дубильных веществ и фенольных гликозидов.

Основные тритерпеноиды, обнаруженные в *O. vulgare*, представляют собой пентациклические тритерпеноиды, такие как урсоловая и олеаноловая кислоты, которые являются общими для большинства губоцветных, тогда как дитерпеноиды не были обнаружены в *O. vulgare*. Rao и др. [168] сообщили о наличии урсоловой кислоты, олеаноловой кислоты, β -ситостерола и триаконтанола в этанольном экстракте *O. vulgare* из Индии. Более того, Baranaskaite и соавт. [169] сообщили о присутствии урсоловой кислоты и олеаноловой кислоты из подвидов мацерацией в этаноле/неводном растворителе (глицерине или пропиленгликоле). Ассири и др. [170] проанализировали масло холодного отжима для определения профиля липидов, содержания жирных кислот, токолов и фенолов. Максимальное содержание нейтральных липидов, затем гликолипидов и фосфолипидов. Основные жирные кислоты включали линолевую, олеиновую, стеариновую и пальмитиновую кислоты. Токолы включают γ -токоферол, α -токотриенол и γ -токотриенол с содержанием 32,1%, 25,8% и 21,3% от общего количества токолов соответственно [171]. Химический анализ семян *O. vulgare* демонстрирует наличие алкенов, алифатических соединений фтора, спиртов, простых эфиров, карбоновых кислот, сложных эфиров, гидрированных спиртов и фенолов [172]. Сообщалось, что гексановый экстракт содержал жирные кислоты и углеводороды, такие как метиловый эфир гексадекановой кислоты, метиловый эфир 9,12-октадекадиеновой кислоты, метиловый эфир 9,12,15-октадекатриеновой кислоты, циклотетракозан и 1-эйкозанол [173].

Таким образом, трава душицы обыкновенной содержит различные неполярные и полярные компоненты, полученные в зависимости от используемого экстрагирующего растворителя (воды, метанола в разных концентрациях, ацетона, этилацетата, гексана и т.д.), что неудивительно, учитывая, что существует так много видов орегано с различными профилями биоактивных компонентов и, следовательно, с различными эффективными свойствами.

1.4.3 Биологическая активность душицы обыкновенной

На протяжении веков *O. vulgare* традиционно использовали для ароматизации пищевых продуктов и лечения различных заболеваний из-за высокого содержания в них эфирного масла. В 7 веке до нашей эры *O. vulgare* использовали для придания аромата рыбе, мясу, овощам и вину. Некоторые из применений *O. vulgare* в традиционной медицине - это респираторные заболевания, боли в животе, болезненные менструации, ревматоидный артрит, нарушения питания и проблемы с мочеиспусканием в качестве мочегонного и противоуролитического средства. В основном использовались надземные части растения [174].

Давнее использование *Origanum vulgare* в народной медицине вызывает еще больший интерес к дизайну новых фармацевтических препаратов. Новые

исследования показали лечебные свойства: противомикробное [175], противовирусное, антиоксидантное [176], противовоспалительное, спазмолитическое [177], антиуролитическое [178], антипролиферативное [179], нейропротекторное [180] и др. Из-за ее высокой антиоксидантной активности, *O. vulgare* является важным природным источником для сохранения различных пищевых продуктов или косметики. В настоящее время интерес к этому растению возрастает не только в других странах, но и в Казахстане, особенно в качестве важной терапевтической альтернативы.

Эфирные масла *Origanum* богаты карвакролом и тимолом. Карвакрол отвечает за биологическую активность, такую как противомикробное, противоопухолевое, антимуtagenное, антигенотоксическое, обезболивающее, спазмолитическое, противовоспалительное, ангиогенное, противопаразитарное, антиагрегантное, антиэластазное, инсектицидное, антигепатотоксическое и гепатопротекторное действие [181].

Липаза поджелудочной железы является важнейшим ферментом в переваривании пищи. Метанольный экстракт *O. vulgare* показал панкреатические ингибирующую активность липазы [182].

Эфирное масло, метанольный и водный экстракт *O. majorana syn.* и *O. vulgare* показали антигиперлипидемический эффект в снижении повышенного уровня триглицеридов и холестерина. Также они показали антигипергликемическую активность в снижении уровня глюкозы в крови у крыс с диабетом [183].

Сообщалось о экстрактах и эфирном масле *O. vulgare*, обладающих антиоксидантной активностью. Они показали сильный DPPH, защитное действие на перекисное окисление липидов в липосомах, активность нейтрализации NO и H₂O₂ [184].

Водный экстракт листьев *O. vulgare* показал гепатопротекторное действие в отношении CCl₄-индуцированной гепатотоксичности в нормальных и гепатотоксических крысах за счет снижения аланинаминотрансферазы в сыворотке крови (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), перекисном окислении липидов (ПОЛ); и повышение GST, CAT, SOD, GPx, GR и GSH в тканях печени [185].

Эфирное масло душицы обыкновенной проявило противогрибковую активность в отношении *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. terreus* и *A. Ochraceus*, *Candida albicans*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. glabrum* и *P. brevicompactum*; *Fusarium proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans* и против патогенов человека *Malassezia furfur*, *Trichophyton rubrum* и *Trichosporon beigeli* [186].

Антибактериальный эффект эфирное масло *O. vulgare* показало против многих грамположительных бактерий и в отношении грамотрицательных бактерий [187].

Водно-метанольный экстракт *O. vulgare* проявляет антиуролитическую активность, ингибируя наклон зародышеобразования и агрегации; а также уменьшилось количество кристаллов моногидрата оксалата кальция, полученных из кальция оксалатных метастабильных растворов, и

предотвращает токсические изменения, включая потерю массы тела, полимочевину, кристаллурину, оксалурию, повышение уровня мочевины и креатинина в сыворотке крови и отложения кристаллов в почках [188].

Эфирное масло, этанольный и водный экстракты показали антипролиферативное действие на аденокарциному клеточной линии молочной железы. Ацетоновые экстракты ингибируют цитотоксичность *in vitro* против клеточной линии почек африканской зеленой мартышки (*Vero*) и клеточной линии рака шейки матки аденокарциномы (*HeLa*) [189].

В настоящее время изучение свойств экстрактов этого растения вызывает все больший интерес в связи с растущим интересом к исследованию альтернатив для потенциального лечения и профилактики некоторых заболеваний, таких как рак. Поэтому существует большой интерес к изучению свойств орегано в медицинских целях.

Таким образом, можно сказать, что душица обыкновенная (орегано) представляет собой богатый источник биоактивных натуральных продуктов. Фитохимические вещества орегано представляют особый интерес из-за их потенциальных биоактивных свойств и многообещающей роли в качестве альтернативного лечения ряда заболеваний из-за противораковой, противовоспалительной, антиоксидантной и антимикробной активности. Обобщены самые последние исследования, посвященные характеристике эфирного масла орегано и его компонентов, а также фенольных соединений (флавоноидов и фенольных кислот) и их антимикробных, антиоксидантных, противовоспалительных, противораковых и нейропротекторных свойств. Интересно, что в большинстве отчетов о фармакологических свойствах орегано, таких как антимикробная активность, использовались эфирное масло и его основные компоненты. Поэтому требуется идентификация и характеристика других биоактивных молекул (например, фенольных соединений).

Комбинированные эффекты, вероятно, будут отличаться от эффектов, наблюдаемых при использовании отдельных соединений. Комбинированный эффект сложных матриц, таких как экстракты и эфирные масла, кажется более важным, возможно, из-за синергетического и/или аддитивного взаимодействия между различными компонентами. Фактически, большинство исследований основано на подходах *in vitro*, потенциальная токсичность и точные побочные эффекты изучаемых веществ редко принимались во внимание, что ограничивало их экстраполяцию на здоровье человека. Следовательно, использование орегано и его биоактивных соединений в терапевтических целях требует дополнительных исследований пероральной биодоступности компонентов орегано, а также их безопасности, фармакокинетики и механизма действия, побочных и нежелательных эффектов, токсикологических рисков и взаимодействия с фармацевтическими препаратами. Кроме того, подтверждение определенных терапевтических возможностей орегано в отношении некоторых заболеваний, таких как диабетические, сердечно-сосудистые и гепатотоксические заболевания печени, в частности

потенциальной способности орегано снижать гипергликемию и повышать чувствительность к инсулину, требует дальнейших исследований.

Выводы по первой главе:

Origanum vulgare L. (душица обыкновенная) относится к семейству *Lamiaceae* и является одним из самых популярных растений, листья которой использовались в народной медицине для лечения таких заболеваний, как боль в мышцах, язвы на коже, астма, расстройства пищеварения, инфекции, воспаления или для поддержания общего состояния здоровья. Кроме того, орегано с древних времен используется в качестве ингредиента средиземноморской диеты. Экстракты, эфирное масло и отдельные соединения этого растения (карвакрол, тимол, розмариновая кислота) продемонстрировали антиоксидантное, противовоспалительное, противораковое и антимикробное действие, которые могут способствовать избежать инфекции человека или защищать сердечно-сосудистую и нервную системы за счет модуляции уровня глюкозы в крови и липидов.

Поэтому, основываясь на современную научную литературу, эфирное масло и экстракты душицы обыкновенной можно рассматривать как богатый источник биологически активных соединений, и его добавление в фармацевтические средства передает эти преимущества; этот подход можно использовать в качестве инструмента для создания комбинированных функциональных препаратов.

Душица обыкновенная входит в ГФ РК как лекарственное растительное сырье за счет своих фармакологических свойств.

Тимол и карвакрол являются основными компонентами орегано, а также они природные антисептики, которые активны в отношении 20 грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Полифенольные соединения орегано, включающие гликозиды, флавоноиды, фенилпропаноиды, также активны в отношении многих вирусов, грибов и микробов, обладают высокой противовоспалительной активностью.

В связи с этим, фармацевтическая разработка стоматологического геля на основе орегано будет заключаться в изучении и технологии выделения субстанций, а именно эфирного масла и сухого экстракта, полученного в условиях ультразвуковой кавитации.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Настоящая работа выполнена в школе фармации Медицинского университета Караганды и в институте биомедицинских наук Медицинского факультета Вильнюсского университета (г. Вильнюс, Литва).

Материалы и методы, использованные для проведения научных исследований, соответствуют требованиям Государственной фармакопеи Республики Казахстан, фармакопеи Евразийского экономического союза, European Pharmacopoeia, The United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, нормативных документов, регламентирующих качество лекарственных средств

в Республике Казахстан.

2.1 Материалы исследования

Объекты исследования

Дикорастущее сырье душица обыкновенной, орегано (*Origanum vulgare* L.) было собрано на территории Акмолинской области и Восточно-Казахстанской области в фазу цветения в июле-августе 2019-2021 г. (Приложение Е, Ж).

Эфирное масло душицы обыкновенной

Эфирное масло *Origanum vulgare* L. (фармацевтическая субстанция) подвижная маслянистая жидкость светло-желтого цвета. Аромат мощный, травянистый, свежий, пряный, пронизывающий, согревающий, горьковатый.

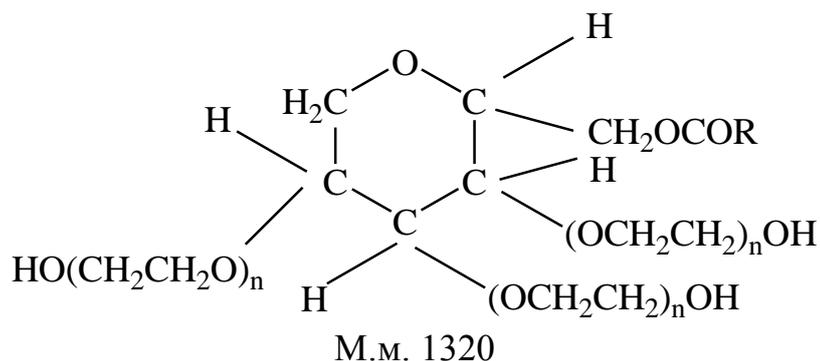
Легко растворимо в спирте этиловом 95 %, в диэтиловом эфире и практически не растворим в воде очищенной. Плотность: от 0,9200 до 0,9345.

Экстракты, полученные из душицы обыкновенной (фармацевтическая субстанция) различными методами: этанольной экстракцией, микроволновой и ультразвуковой экстракцией.

Вспомогательные вещества

Твин-80 (*Twiniun-80, Polysorbatum 80 полисорбат 80*)

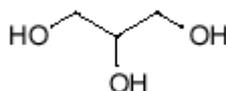
Качество регламентируется требованиями: ГФ РК, стр. 407.



$d_4^{20}=1.0815$, $n_D^{20}=1.4720$, $T_{\text{воспл}}=110$.

Твин-80 является неионогенным поверхностно-активным веществом, применяемым в качестве стабилизатора, солюбилизатора в фармацевтической промышленности при изготовлении суппозиторий, мазей, растворов, суспензий, инъекционных растворов и других лекарственных форм.

Глицерин (*Glycerinum, Glycerolum*), C₃H₈O₃, M_r 92,10.



Субстанция содержит не менее 98,0 % и не более 101,0 % C₃H₈O₃.

Густая, прозрачная, бесцветная или почти бесцветная сиропообразная жидкость, сладкого вкуса, без запаха. Гигроскопичен.

Смешивается с водой очищенной и спиртом этиловым 95 % во всех соотношениях, мало растворим в эфире диэтиловом, практически не растворим в жирных маслах, слабо растворим в ацетоне.

Спирт этиловый 96% [ГФ РК, т.2, с.581]

C_2H_5OH

М.м. 46

Вода очищенная (Aqua purificata)

H_2O

М.м.-18

Бесцветная прозрачная жидкость без запаха и вкуса. Качество регламентируется требованиями ГФ РК, т.1, с.182; ГФ РК, т.2. с.30

Карбомер (карбопол) является высокомолекулярным полимером акриловой кислоты, представляет собой гигроскопичный порошок белого или почти белого цвета.

Агар микробиологический [ГОСТ 17206-96]

Агар – нейтральный линейный полисахарид, нерастворим в холодной воде, но набухает в ней, в горячей воде растворяется. В слабой щелочи агар набухает лучше, чем в воде, а в крепкой хуже. Кислоты вызывают значительное уменьшение набухающего эффекта, по-видимому, из-за ацидолиза с образованием агаровых кислот. Во много раз превосходит по желирующему действию желатин.

Препараты сравнения

Левомеколь (Laevomecolum).

Мазь, в 100 г которой содержится левомицетина 0,75 г, метилурацила 4г, полиэтиленгликоля 95,25 г. Оказывает антимикробное и противовоспалительное действие.

Применяют для лечения гнойных ран. Мазью пропитывают стерильные марлевые салфетки, рыхло заполняют ими рану. перевязки производят ежедневно до полного очищения раны от гнойно-некротических масс.

Форма выпуска: мазь в тубах по 40 г и банках темного стекла по 60 и 100 г. Производитель: АО «Химфарм», Казахстан, г. Шымкент

Мазь нистатиновая (Unguentum Nistatini)

Мазь желтого цвета содержит 1г 100 000 ЕД нистатина.

Применяют при лечении грибковых заболеваний кожи и слизистых оболочек, особенно при поражениях, дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Форма выпуска: мазь в тубах по 15 г и 30 г.

2.2 Методы исследования

Физико-химические, биофармацевтические, технологические, микробиологические и фармакологические методы и приборы использовали, описанные в литературе так и новые методики исследования, описанные в соответствующих разделах диссертационной работы.

Для проведения данных исследований использованы следующие приборы:

- ультразвуковая баня на 10 литров (ANPEL Laboratory Technologies, Китай);
- модифицированный аппарат Клевенджера для выделения эфирного масла (Россия, г. Новосибирск);
- спектрофотометр (Implen GmbH, Германия);
- газовый хроматограф с масс-селективным детектором (Agilent, США)

Фармакогностическое исследование душицы обыкновенной

Макроскопический анализ. Сырье душицы обыкновенной, представляющее собой надземные органы (стебли, листья и соцветия) высушивали и рассматривали при увеличении $\times 5$ и $\times 10$ раз. Микрофотографии делали с помощью USB-микроскопа Levenguk. Описание морфологического строения осуществляли при помощи методических указаний Лотовой.

Микроскопический анализ. Свежесобранные органы (лист, стебель, черешок и соцветия) консервировали в растворе Штрауса-Флеминга, а именно в смеси спирта (70%), глицерина и дистиллированной воды в одинаковых пропорциях. При определении анатомических признаков листа исследуемого вида были отобраны наиболее развитые интактные листья в средней части жилки, а также проанализированы фрагменты (поверхностные и поперечные срезы) в средней части между главной жилкой и крайней частью. Поперечные срезы стебля и черешка проводили по всей длине через каждые 2-3 см. Анализ микроскопических признаков сырья проводился по Государственные фармакопее РК, т. I и III (Общая фармакопея. Методы анализа. «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья», 1/3: 20823 «Микроскопическое исследование лекарственного растительного сырья» и Ф ЕАЭС 2.1.8.17. Работа проводилась на микроскопе «Биомед-4» с окулярами $10 \times$, $20 \times$, линзами $4 \times$, $10 \times$, $20 \times$, $40 \times$.

Методы исследования фармацевтико - технологических и фармакогностических параметров сырья

Общая зола. Определение общей золы высушенного сырья проводили в соответствии с ГФ РК, т. I (2.4.16) ЕАЭС Ф 2.1.4.16 «Зола общая». Не более 15.0%

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Определение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте проводили по ГФ РК, т. I (2.8.1) и ЕАЭС Ф 2.1.8.1. Не более 4.0%

Идентификация сырья. Устанавливали по внешним признакам, анатомо-диагностическим признакам при микроскопическом исследовании,

качественным реакциям, хроматографическим и спектральным характеристикам.

O. vulgare - Листья зеленые, длиной 3-28 мм и шириной 2.5-19 мм, черешковые или сидячие. Пластинка яйцевидная или яйцевидно-эллиптическая с цельными или зубчатыми краями и заостренной или тупой верхушкой. Цветки встречаются только в виде отломанных частей щитка. Прицветники зеленовато-желтые и чешуевидные. Чашечка по размеру равна прицветнику и незаметна. Венчик белый на верхушках соцветий едва заметный или незаметный (ГФ РК, т.2. с.698)

Определение измельченности сырья. Определение измельченности сырья проводили методом ситового анализа в соответствии с ГФ РК, т. I «Определение степени измельченности лекарственного растительного сырья». Для цельного сырья количество частиц, проходящих сквозь сито с указанным размером отверстий, не должно превышать 5 %, если иное не указано в фармакопейной статье или нормативной документации.

Определение содержания примесей. Содержание посторонних примесей для душицы обыкновенной определяли согласно общей статье на лекарственное растительное сырье «Душица» путем визуального осмотра согласно ГФ РК, т.2, с. 700 и монографией Ф ЕАЭС 2.1.8.2.

Потеря в массе при высушивании (ГФ РК, т.1, 2.2.32 и Ф ЕАЭС 2.1.2.32) для душицы обыкновенной не более 13%.

Фармацевтико-технологическое исследование душицы обыкновенной проводилось согласно Мининой С.А., Кауховой И.Е. [190].

Однородность. Лекарственные средства в виде геля должны быть однородными. Контроль геля проводится визуально.

рН. рН водной вытяжки определяли потенциометрически, в соответствии с ГФ РК, т. 1, 2.2.3.

Идентификация. На хроматограмме испытуемого раствора, полученной при количественном определении карвакрола, время удерживания основного пика должно совпадать с временем удерживания пика карвакрола на хроматограмме раствора стандартного образца карвакрола.

К 1 мл препарата прибавляют 3 капли 1 % раствора ванилина в кислоте серной, концентрированной образуется красновато-фиолетовое окрашивание (терпеноиды).

Количественное определение. Содержание карвакрола в эфирном масле и экстракте травы душицы обыкновенной, геля определяли с использованием стандартного образца карвакрола методом ГХ-МС на приборе Agilent Technologies 7890 А.

Определение средней массы и отклонения от средней массы суппозиторий проводили на весах аналитических МС 210S.

Физико-химические методы

Анализ ГХ-МС эфирных масел растений: для изучения качественного состава и количественного содержания компонентов эфирных масел 14 видов растений, произрастающих в Казахстане применен метод ГХ-МС (газовой хроматографии с масс-спектрометрией) [191].

Химические методы.

Качественные реакции:

1 г фармацевтической субстанции или геля из орегано помещают в коническую колбу с добавлением 5 мл CHCl_3 . Затем смесь фильтруют с помощью бумажного фильтра в чашку для выпаривания, выпаривают на водяной бане и прибавляют 3 капли раствора ванилина в серной кислоте, должно образоваться красновато-фиолетовое окрашивание до фиолетово-красного (терпеноиды).

К 20 мл препарата добавляют 20 мл этилацетата и помещают в делительную воронку и взбалтывают в теч. 1-2 минут. После разделения на слои, верхний этилацетатный слой выпаривают на водяной бане досуха. К сухому остатку добавляют 3 мл 70%-спиртовой раствор и фильтруют через бумажный фильтр. К полученному раствору добавляют спиртовой раствор хлорида алюминия 2%, должно наблюдаться желтое окрашивание (флавоноиды).

К 2 мл препарата прибавляют 0,25 мл раствора $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, должен выпасть желтоватый осадок (полифенольные соединения).

Фармакопейные методы:

- Содержание эфирного масла в сухом сырье орегано должно быть не менее 25 мл/кг (ГФ РК, 2 том, с. 698);

- суммы тимола и карвакрола в эфирном масле орегано – не менее 60% (ГФ РК, 2 том, с. 698);

- Тонкослойная хроматография: к 1.0 мг измельченного в порошок сырья (2.9.12) прибавляют 5 мл метиленхлорида Р, встряхивают в течение 3 мин и фильтруют через слой 2 г натрия сульфата безводного Р. Раствор сравнения. 1 мг тимола Р и 10 мкл карвакрола Р растворяют в 10 мл метиленхлорида Р. На линию старта ТСХ пластинки со слоем силикагеля Р наносят в виде полосок по 20 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения. Пластинку помещают в камеру с метиленхлоридом Р. Когда фронт растворителя пройдет 15 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе, опрыскивают раствором анисового альдегида Р, используя 10 мл на пластинку площадью 200 мм^2 , и нагревают при температуре 100-105 °С в течение 10 мин. Ниже приведена последовательность зон на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения. На хроматограмме испытуемого раствора в нижней трети и верхней ее частях могут обнаруживаться дополнительные зоны (ГФ РК, 2 том, общая статья на лекарственное растительное сырье «Душица»);

микробиологическую чистоту определяли по методике, изложенной в ГФ РК т. I, 2.6.12, 2.6.13 и Ф ЕАЭС 2.3.1.4.

вода (2.2.13). Не более 120 мл/кг. Определение проводят из 20.0 г измельченного в порошок сырья (355) (2.9.12) (ГФ РК, 2 том, общая статья на лекарственное растительное сырье «Душица»);

Общая зола (2.4.16). Не более 15.0 % (ГФ РК, 2 том, общая статья на лекарственное растительное сырье «Душица») и и статьей Ф ЕАЭС 2.1.4.16.;

Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной (с ГФ РК т.1, 2.8.1. и фармакопейному методу Ф ЕАЭС 2.1.8.1.). Не более 4,0%. (ГФ РК, 2 том,

общая статья на лекарственное растительное сырье «Душица»);

Скрининг образцов образцов эфирного масла, сухих экстрактов душицы обыкновенной и мягкой лекарственной формы на их основе на антимикробную, противовоспалительную и противокариесную активность

Антимикробная активность проводилась согласно методики, предложенной в [192].

Скрининг образцов на антимикробную активность проводили диско-диффузионным методом. Изучение антимикробной активности вышеуказанных образцов проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) и к дрожжевому грибку *Candida albicans* (ATCC 10231) диско-диффузионным методом. Препараты сравнения – бензилпенициллин, для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*.

Для проведения исследования готовили взвесь, содержащую стандартное количество жизнеспособных клеток бактерий, которую засеивали газон на поверхность питательной среды в чашки Петри. На стерильные диски из фильтровальной бумаги наносили 0,01 мл образца. Диски с препаратами накладывали на посев на расстоянии 2,5 см от центра чашки по кругу (на одну чашку 6 дисков). Посевы инкубировали 24 ч при 36 °С. После инкубации, на фоне равномерного бактериального газона вокруг дисков образовывались зоны полного и частичного подавления роста бактерий. Учет результатов осуществляли путем измерения диаметра зон подавления роста

Влияние эфирных масел на образование биопленок *Streptococcus mutans*.

Исходный материал *Streptococcus mutans* (штамм UA159) в обезжиренном молоке размораживали и 10 мкл его суспензии инокулировали во флаконы с заквасочной культурой, содержащие 990 мкл бульона Тодда Хьюитта. Затем флаконы с заквасочной культурой инкубировали в анаэробных условиях при 37 °С в течение 18 часов. Для проверки чистоты полную петлю исходной суспензии *S. mutans* инокулировали в чашки с колумбийским агаром с 7% овечьей кровью. Затем, планшеты инкубировали в анаэробных условиях при 37 °С в течение 48 ч. Через 18 ч корректировку оптической плотности заквасочных культур проводили в разведении 1: 5 в 96-луночном микропланшете с использованием спектрофотометра для считывания микропланшетов Dупex MRX™ при 630 нм. ТН-бульон без и с 1% сахарозы разливали в 24-луночные плоскодонные планшеты для культивирования тканей из полистирола (конечный объем жидкости на лунку составлял 1 мл). Исходную концентрацию эфирного масла душицы обыкновенной (100 мг/мл) готовили в чистом диметилсульфоксиде. Эфирное масло и гель добавляли в чашки в конечных концентрациях 2, 4, 6, 8 и 10 мг / мл, а ДМСО добавляли в чашки в конечных концентрациях 2, 4, 6, 8 и 10%. В лунки планшета засеивали заквасочную культуру *S. mutans* в конечном разведении 1: 100, и планшеты инкубировали в анаэробных условиях (95% N₂ + 5% CO₂) при 37 °С в течение

24 часов. Лунки планшета промывали дистиллированной водой для удаления непрочно связанных бактериальных клеток, а затем биопленку на дне лунок фиксировали 95% этанолом. Биопленку окрашивали 0,01% -ным раствором кристаллического фиолетового, а затем связанный краситель экстрагировали 33% -ным раствором уксусной кислоты. После этого оптическую плотность образцов измеряли с использованием спектрофотометра для чтения микропланшетов Dynex MRX™ при 595 нм. Данные были проанализированы с помощью программы Statistical Package for Social Science (версия 23.0) с использованием однофакторного ANOVA-теста наименьшей значимой разницы Post-Hoc для сравнения средних значений.

Скрининг стоматологического геля на противовоспалительную активность

Исследования проводились на 48 белых крысах обоего пола массой 210-220 г, которые были распределены на 8 групп по 6 животных в каждой: 1-6 опытные группы - животные, получавшие стоматологический гель в дозе 25 мг/кг; 7 группа сравнения- животные, получавшие препарат сравнения диклофенак натрия, 8 группа контрольная – животные, получавшие растворитель [193].

Острую экссудативную реакцию (перитонит) вызывали внутрибрюшинным введением 1% раствора уксусной кислоты в объеме 1 мл на 100 г массы тела крыс. Через 3 часа животных забивали, вскрывали брюшную полость, собирали экссудат и оценивали его объем. Исследуемые объекты изучали в дозе 25 мг/кг при пероральном введении в виде крахмальной слизи. Препарат сравнения диклофенак натрия вводили животным внутрижелудочно однократно в его эффективной дозе 8 мг/кг (ЕД₅₀). Контрольные животные получали эквивалентное количество крахмальной слизи. Исследуемые объекты вводили однократно за 1 час до введения 1% раствора уксусной кислоты.

Противовоспалительную активность выражали в процентах уменьшения количества воспалительного экссудата в брюшной полости у опытных крыс по сравнению с контрольными.

Микробиологические методы

Испытание на микробиологическую чистоту готовых лекарственных форм проводили по методике, изложенной Ф ЕАЭС 2.3.1.4 и ГФ РК т. I, 2.6.12, 2.6.13

Статистическая обработка полученных результатов проводилась согласно вариационно-статистического анализа с использованием критерия Стьюдента, в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан, European Pharmacopoeia, The United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia. Для расчетов использовали электронные программы Microcal Origin и Excel.

3 ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОКАРИЕСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Эфирные масла представляют собой ароматические маслянистые жидкости, получаемые из растительных материалов (почки, цветы, кора, семена, листья, ветки, древесина, травы, плоды и корни). Известно около 3000 эфирных масел, из которых 300 имеют коммерческое значение на рынке парфюмерии. Эфирные масла представляют собой сложные смеси, состоящие из многих соединений. Химически они получены из терпенов и их кислородсодержащих соединений.

Распространение резистентных к лекарствам возбудителей представляет собой одну из наиболее серьезных угроз для успешного лечения микробных заболеваний. Многие эфирные масла используются в комплементарной медицине при бактериальных и грибковых инфекциях, включая фурункулы, акне, гингивит, кариес и т.д. Для изучения химического состава эфирных масел и их действие на кариес произведен сбор доступного дикорастущего эфиромасличного сырья *Thymus marschallianus* Willd, *Pinus sylvestris* L., *Achillea nobilis* L., *Thuja orientalis* Endl., *Thymus crebrifolius* Klok., *Origanum vulgare* L., *Artemisia austriaca* L., *Achillea millefolium* L., *Matricaria chamomilla* L. и др.

Получены эфирные масла из 14 эфиромасличных растений и изучен их химический состав методом ГХ-МС и проведен скрининг на противокариесную активность (таблица 1).

Таблица 1 - Характеристики изученных эфирных масел растений

№ вида	Вид растения	Место сбора, дата	Выход, (в % от веса)	Число идентиф. компонентов	Основные компоненты, (%)
1	2	3	4	5	6
1	<i>Achillea nobilis</i> L.	Карагандинская область	0.7	18	1.8-Цинеол (13.0), туйон (10.0), борнеол (8.5)
2	<i>Achillea millefolium</i> L..	Карагандинская область	0.32	150	Камфора (16,0), 1.8-цинеол (8,7), борнеол (10,0)
3	<i>Artemisia austriaca</i> L.	Карагандинская область	0.1	54	1.8-Цинеол (13.0), α-туйон (10.0), борнеол (8.5)
4	<i>Hyssopus ambiguus</i> (Trautv.) Pjin	Карагандинская область	0.8	27	1.8-цинеол (45.0)
5	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Карагандинская область	0.71	38	Бисабололоксид А (20.4), хамазулен (13.0)

1	2	3	4	5	6
6	<i>Mentha piperita</i> L.	Алматинская область	0.35	42	Ментон (26.6)
7	<i>Melissa officinalis</i> L.	Карагандинская область	0.3	27	β -кариофиллен-оксида (19.0)
8	<i>Nepeta cataria</i> L.	Карагандинская область	0.45	50	4aS,7S,7aS-непетолактон (19.6)
9	<i>Origanum vulgare</i> L.	Акмолинская область	0.33	120	карвакрол (65,0)
10	<i>Pinus sylvestris</i> L.	Карагандинская область	1.0	39	α -пинен (60.4), β -пинен (7.1)
11	<i>Thymus marschallianus</i> Willd.	Карагандинская область	0.18	58	Тимол (26.2), карвакрол (11.8)
12	<i>Thymus crebrifolius</i> Klok.	Карагандинская область	0.23	28	Линалоол (27.9), <i>n</i> -цимол (12.9), <i>n</i> -мент-1-ен-8-ол (10.9), борнеол (9.6) спатуленол (9.1)
13	<i>Thuja orientalis</i> Endl.	Карагандинская область	0.18	108	Фенхон (16.2), 1,3,3-триметил-бицикло [2.2.1] гептан-2-он (11.3)
14	<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam	Карагандинская область	0.3	24	Пулегон (38.7)

Количество биопленки, образованной бактериями *Streptococcus mutans*, оценивали с помощью колориметрического метода и оптической профилометрии. Оценка эффективности всех исследованных эфирных масел для ингибирования образования биопленок *S. mutans* с помощью колориметрического анализа показала его способность значительно подавлять развитие биопленок на поверхности полистирола в 24-луночных планшетах для культивирования клеток.

Эфирные масла *Origanum vulgare*, *Nepeta cataria* продемонстрировали наивысшее подавляющее действие на образование биопленок *S. mutans* в среде, содержащей 1% сахарозы (рисунок 3, 4). Остальные эфирные масла проявляли ингибирующее действие на образование биопленок *S. mutans* в зависимости от концентрации.

Растворитель – диметилсульфоксид (ДМСО) снижал образование биопленок *S. mutans* в зависимости от концентрации в среде, содержащей 1% сахарозы, однако ингибирующая активность эфирных масел в отношении образования биопленок *S. mutans* значительно выше по сравнению с ДМСО.

Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки новых лечебно-профилактических стоматологических средств.

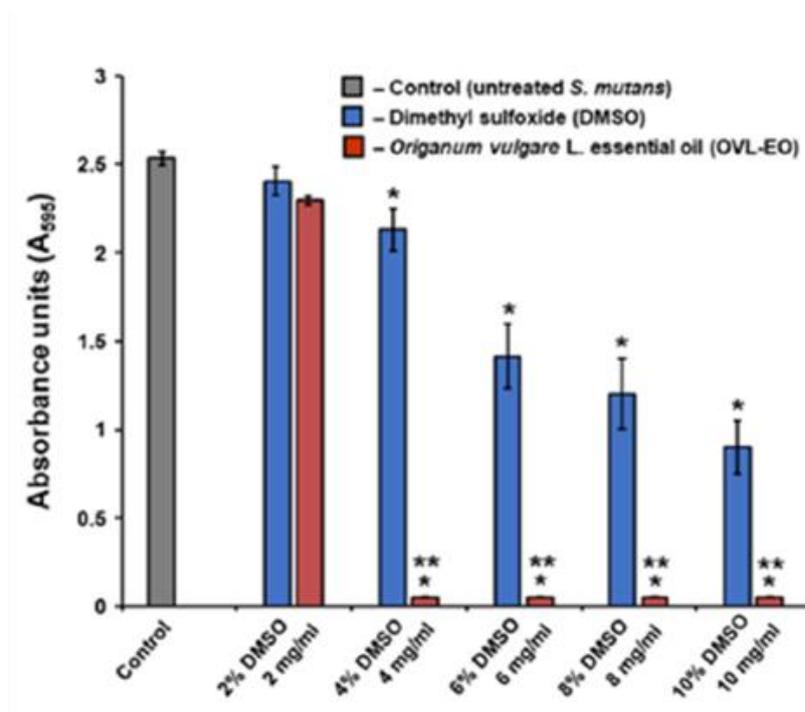


Рисунок 3 – Влияние эфирного масла орегано (*Origanum vulgare* L.) в ингибировании образования микробных биопленок *S. mutans*

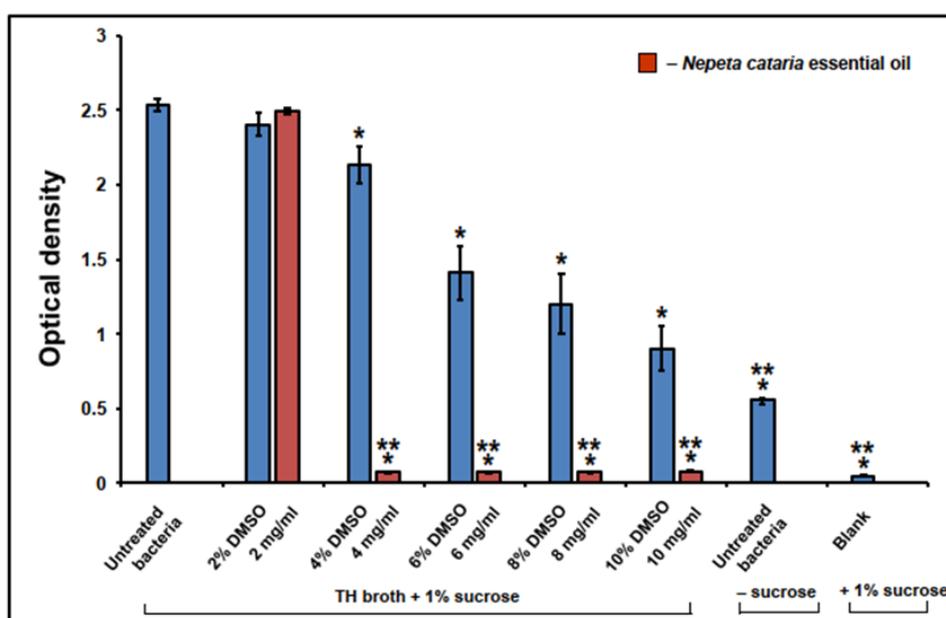


Рисунок 4 – Влияние эфирного масла *Nepeta cataria* L. в ингибировании образования микробных биопленок *S. mutans*

В связи с тем, что противокариесная активность эфирного масла душицы обыкновенной по сравнению с эфирным маслом *Nepeta cataria* L. в концентрации 2% лучше ингибируют образование микробной биопленки *Streptococcus mutans*, тем самым осложняя течение инфекционного процесса, поэтому перспективной субстанции для создания оригинальных стоматологических средств для снижения, распространения кариеса выбрана лекарственная субстанция – эфирное масло душицы обыкновенной.

Выводы по третьему разделу:

Накопление биопленки бактериями *Streptococcus mutans* на твердых зубных тканях приводит к кариесу зубов, который остается одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта. Следовательно, разработка новых противобактериальных агентов имеет решающее значение.

Нами проведен анализ компонентного состава эфирных масел 14 видов распространенных казахстанских растений (*Achillea nobilis* L., *Achillea millefolium* L., *Artemisia austriaca* L., *Hyssopus ambiguus* (Trautv.) Pjin., *Matricaria chamomilla* L., *Mentha piperita* L., *Melissa officinalis* L., *Nepeta cataria* L., *Origanum vulgare* L., *Pinus sylvestris* L., *Thymus marschallianus* Willd., *Thymus crebrifolius* Klok., *Thuja orientalis* Endl., *Ziziphora clinopodioides* Lam) и изучено их влияние на образование биопленок *Streptococcus mutans*.

После гидродистилляции химический состав эфирных масел анализировали с помощью газовой хроматографии совместно с масс-спектрометрией.

Количество биопленки, образованной бактериями *Streptococcus mutans*, оценивали с помощью колориметрического метода и оптической профилометрии. Результаты: С помощью анализа ГХ-МС установлен химический состав 14 видов растений. Например, основными компонентами для ЭМ являются: 1.8-цинеол для эфирного масла *Hyssopus ambiguus* и *Nepeta cataria*, карвакрол для *Origanum vulgare*, пулегон для *Ziziphora clinopodioides* и непетолактон для *Nepeta cataria*. В результате проведенного эксперимента выявлено, что эфирные масла *Origanum vulgare*, *Nepeta cataria* Эфирные масла *Origanum vulgare*, *Nepeta cataria* продемонстрировали наивысшее подавляющее действие на образование биопленок *S. mutans* в среде, содержащей 1% сахарозы. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки новых лечебно-профилактических стоматологических средств.

4 ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ И ФАРМАЦЕВТИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ *ORIGANUM VULGARE L.*

4.1 Заготовка, сушка и хранение лекарственного растительного сырья *Origanum vulgare L.*

Душица обыкновенная произрастает во многих местах Республики Казахстан, но распространена в Восточном Казахстане (окр. горных хребтов Калбинский, Нарын, Листвяга, Ульбинский, Ивановский и т.д.). В этих районах образуют даже заросли (рисунок 5) [194].



Рисунок 5 - Карта распространения душицы обыкновенной

В связи с тем, что эксплуатационные запасы душицы обыкновенной находятся в пределах от 4.3 – 22.9 тонн, то рекомендовано ежегодно собирать сырье в казахстанской части Алтая, а именно в окрестностях горных хребтов Ивановский (12.9 ± 0.9), Нарын (16.5 ± 1.9), Листвяга (22.99 ± 1.7) тонн. Общая площадь зарослей душицы обыкновенной в ВКО составляет 120,8 га с плотностью запаса сухого сырья – 25.6 ц/га.

Согласно с Надлежащей практикой сбора лекарственных растений (GACP) сбор душицы обыкновенной осуществлялся в окрестностях Щучинска Акмолинской области, в период бутонизации-цветения.

Необходимые правила для сбора и сушки душицы обыкновенной:

- верхнюю надземную часть душицы обыкновенной необходимо срезать в утреннее время;
- сушить сырье душицы обыкновенной необходимо на специальных сетках в хорошо проветриваемом помещении (рисунок б), температура окружающей среды 18 ± 2 °С.;
- удалить органическую и минеральную примесь, а именно твердые комки земли, насекомых, пыль;

- сырье душицы обыкновенной необходимо 1 раз в сутки переворачивать;
- измельчать сырье необходимо до 1 см, так как возможно повредить эфиромасличные железки или вместилищ. Измельчение сырья меньше 1 см приводит к низкому выходу эфирного масла (рисунок 6).



Рисунок 6 - Сушка ЛРС душицы обыкновенной

Высушенная надземная часть *Origanum vulgare* L. была запакована в бумажные мешки по 2 кг с обязательной маркировкой, включающую наименование травы, времени, даты, а также с места сбора. Согласно требованиям СанПиН №232 от 19.03.15 от 24.04.15 г. по хранению и транспортировке установлена температура хранения *Origanum vulgare* L. - не более 18 °С.

Проведено изучение характеристик лекарственного растительного сырья *Origanum vulgare* L. и стандартизация сырья по требованиям ГФ РК и Ф ЕАЭС. Заложены несколько серий для исследования стабильности при долгосрочных испытаниях при температуре 18 °С и относительной влажности 60±5 %. Транспортировку необходимо производить в соответствии с приказом №262 от 24.04.15 «Об утверждении Правил хранения и транспортировки лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники при температуре не выше 18 °С».

Таким образом, заготовку сырья *Origanum vulgare* L. рекомендовано производить сушку сырья на открытом воздухе без воздействия прямых солнечных лучей, размещая его на сушильных рамах слоями в 10 – 15 см при температуре не выше 18 °С.

4.2 Морфолого-анатомическое изучение *Origanum vulgare* L.

4.2.1 Макроскопическое изучение листьев *Origanum vulgare* L.

Род душица (*Origanum* L.) относится к семейству *Lamiaceae* Lindl. (*Labiatae*) – Яснотковые (Губоцветные), растения которого представляют интерес в качестве источников лекарственных препаратов (рисунки 7, 8) [195].

Сырье для исследований было собрано в 2019 г. в окр. г. Щучинск Бурабайского района Акмолинской области (52°56' с. ш. 70°12' в.д.).



Рисунок 7 - *Origanum vulgare* L. в фазе цветения [196]



Рисунок 8 - *Origanum vulgare* L. в природе

Изучены морфологические показатели надземной части *Origanum vulgare* L. Применены методы, описанные в трудах В.Н. Вехова, Л.И. Лотовой при изучении морфологии растений и отдельных органов [197, 198].

Морфология. Для определения особенностей строения душицы обыкновенной были исследованы морфологические показатели надземных органов (таблица 2).

Таблица 2 - Морфологические показатели надземных органов душицы обыкновенной

Показатели	Описание
Побеги	<p>Восходящие или отклоняющиеся, прямые. Цвет в верхней части светло-сиреневый, в нижней - зеленый. Листорасположение супротивное.</p> 
Поверхность побегов	<p>Стебли голые, гладкие, в узлах шероховатые.</p> 
Форма листа	<p>Эллиптические, 0,5-2,2 дл. и 0,5-1,5 см шириной, на конце заостренные, цельнокрайние, с завернутыми вниз краями, нижние листья - черешковые, верхние при соцветиях - сидячие, в пазухах листьев могут расти укороченные побеги с более узкими листьями</p>
Структура верхней стороны листа	<p>Верхняя сторона листа гладкая, темно-зеленая, матовая, шероховатая, с хорошо выраженными жилками.</p> 
Структура нижней стороны листа	<p>Нижняя сторона зеленая, равномерно разбросанными по поверхности; хорошо выражена средняя жилка, выступающая над поверхностью, края листовой пластинки слегка загибаются внутрь.</p> 

<p>Форма соцветия</p>	<p>Соцветия верхушечные, щитково-мутовчатые, цветки в мутовках по 5-15 сидят в пазухах прицветных листьев.</p> 
<p>Чашечка</p>	<p>Чашечка широко-колокольчатая, 3-4 мм длиной, почти симметричная, надрезана до 1/3 от общей длины. Зубцы широко-треугольные, окрашены в фиолетовый цвет. Сама чашечка – темно-зеленая, опушена редкими прижатыми трихомами.</p> 
<p>Венчик</p>	<p>Венчик зигоморфный, ясно-двугубый, розовый или светло-лиловый, редко розоватый, 20-28 мм длиной, почти голый.</p> 
<p>Местообитание</p>	<p>Растет на холмах, полянах, полянах</p>

Таким образом, диагностические признаки сырья, следующие:

1 Стебли: форма и расположение листьев на стебле, ветвистость побегов и их окраска. Четырехгранные, прямые, в верхней части - разветвленные.

2 Листья: форма и размер листовых пластин, форма края, верхушки и основания, цвет нижней и верхней стороны, степень опушения, расположение железок. Листья продолговатые, супротивные, черешковые, цельнокрайные, на верхушке заостренные, обе стороны окрашены в зеленый цвет.

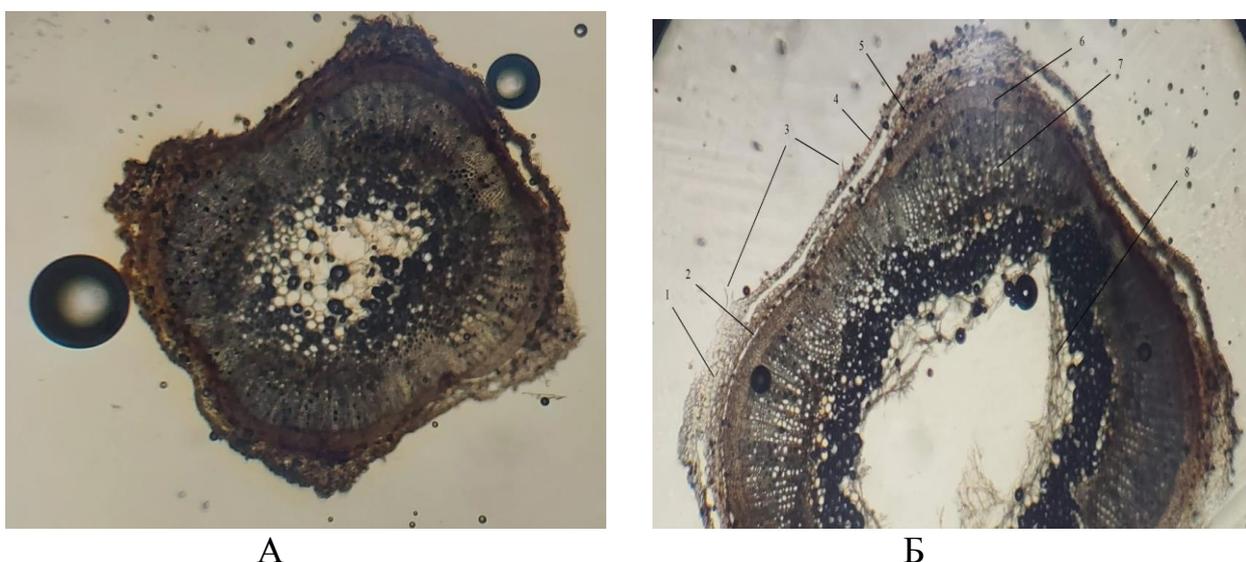
3 Соцветие: форма и размеры, расположение прицветных листьев. В виде щитковидной метелки, раскидистые многоцветковые.

4 Чашечка цветка: форма, цвет, форма зубцов и степень опушения. Чашечка неясно-двугубая, зубцы – заостренные.

5 Венчик цветка: форма, окраска венчика. Венчик ясно-двугубый.

4.2.2 Микроскопическое изучение листьев душицы обыкновенной *Поперечный срез стебля*

Стебель душицы обыкновенной на поперечном срезе - угольный, с хорошо выраженными ребрами, центральная часть полая, особенно в нижней части стебля, в верхней части – сохраняются участки сердцевинной паренхимы (рисунок 9).



1 – колленхима, 2 – эндодерма, 3 – трихомы, 4 – эпидермис, 5 – хлоренхима, 6 – флоэма, 7 – ксилема, 8 – остатки сердцевинной паренхимы; А – общий вид поперечного среза верхней части стебля, Б – фрагмент поперечного среза средней и нижней части стебля

Рисунок 9 – Поперечный срез стебля *Origanum vulgare*. Ув. 4x16; 10x16

Однослойная эпидерма с утолтившимися оболочками клеток находится по всей длине стебля. На эпидерме стебля также обнаружены редкие простые трихомы. Под эпидермой находятся некоторые части хлоренхимы, прерывающиеся над ребрами участками уголковой колленхимой.

Проводящая система непучкового типа состоит из участков флоэмы, под которыми находится кольцо ксилемы. Ксилема представлена хорошо выраженными цепочками сосудов. Для средней и нижней частей побегов сердцевинная паренхима отмирает, стебли становятся полыми.

Поверхностный препарат листа

Клетки верхнего эпидермиса листа *Origanum vulgare* округлой или многоугольной формы, утолщенными и сильно - извилистыми стенками (рисунок 10). По всей поверхности разбросаны многочисленные эфирно-

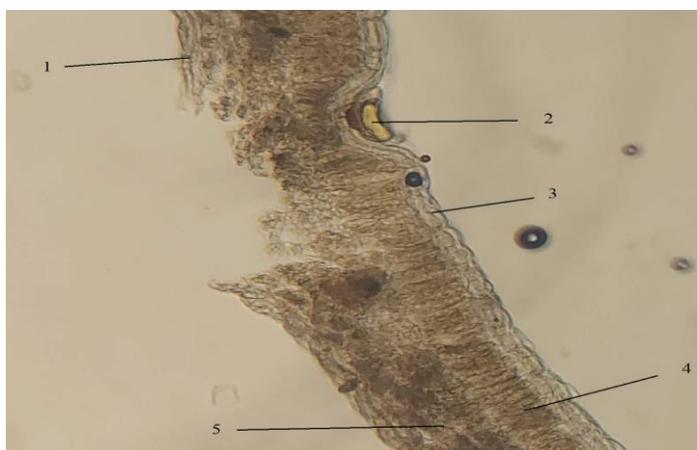
масляные железки, крупные, округлой или овальной формы, погруженные в толщу эпидермы. Трихомы редкие, простые. Устьица диацитного типа, мелкие, многочисленные.



1 – эфиромасляные железки, 2 – основные клетки эпидермиса, 3- устьица, 4 - трихома

Рисунок 10 - Верхний эпидермис листа *Origanum vulgare* Ув. 16x40

Клетки нижнего эпидермиса округлые, почти прямостенные, над жилками листа – прозенхимные с прямыми стенками (рисунок 11). Устьица мелкие, диацитного типа. Эфирно-масляные крупные, округлые или овальные, погружены в эпидермис листа. Трихомы крупные, редкие, простые, многоклеточные.

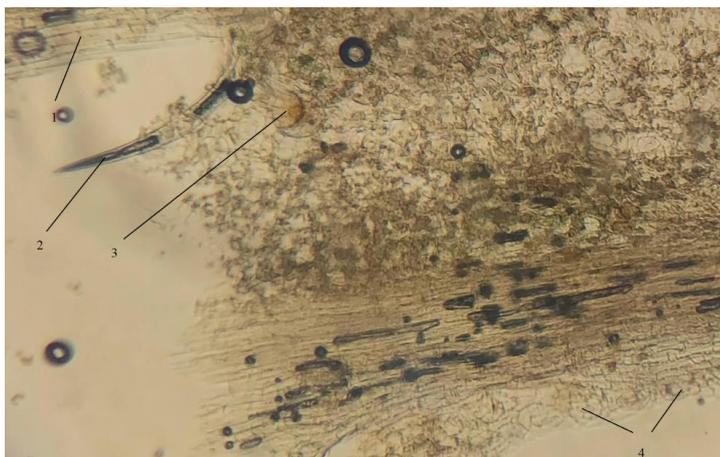


1 – основные клетки эпидермиса, 2 – трихома, 3- эфирно-масляные железки, 4- устьица.

Рисунок 11 - Нижний эпидермис листа *Origanum vulgare* Ув. 16x40

На поперечном срезе лист *Origanum vulgare* плоский, дорзо-вентрального типа (рисунок 12). По периметру листа находятся клетки верхнего и нижнего эпидермиса, однослойные, наружные стенки - более утолщенные. Сверху эпидермис покрыты толстым слоем кутикулы. Мезофилл хорошо дифференцирован на столбчатую и губчатую ткани. Столбчатая ткань образует

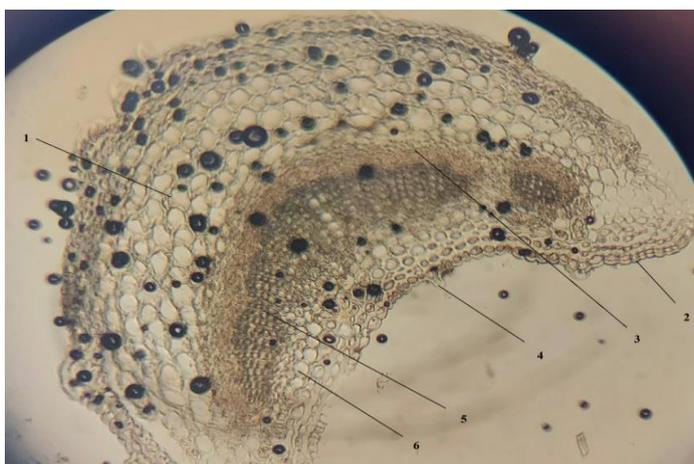
одинарный слой с верхней стороны листа, а губчатый мезофилл расположен с нижней стороны листа.



1 - нижний эпидермис, 2- эфирно-масличные железы, 3 – верхний эпидермис, 4- столбчатый мезофилл, 5- губчатый мезофилл

Рисунок 12 - Поперечный срез листа *Origanum vulgare*. Боковой фрагмент. Ув. 16x40

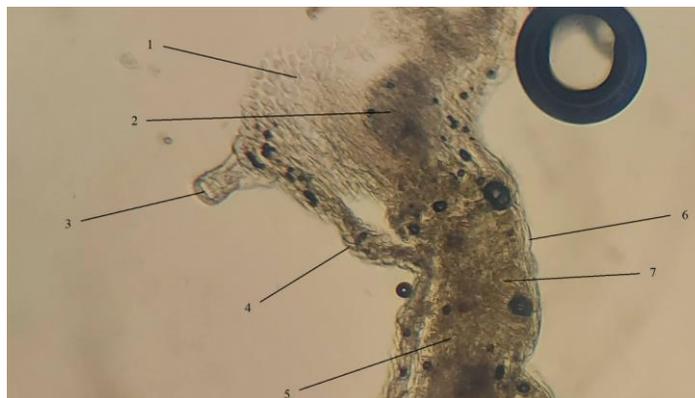
В области главной жилки (рисунок 13) проводящий пучок занимает центральное положение, коллатерального, закрытого типа (камбий не выявлен), ксилема ориентирована к верхней стороне листа, флоэма – к нижней. Над проводящим пучком расположен тяж механической ткани – колленхимы.



1 -верхний эпидермис листа, 2- центральный проводящий пучок, 3-трихома, 4-колленхима, 5 -столбчатый мезофилл-, 6- нижний эпидермис листа, 7- губчатый мезофилл

Рисунок 13 - Поперечный срез листа *Origanum vulgare*. Фрагмент в области центральной жилки. Ув. 16x40

На поперечном срезе черешок листа серповидной формы, изогнутый. По периметру располагается однослойный эпидермис и редкие одноклеточные трихомы. Основная масса мезофилла занята хлоренхимой (рисунок 14). Отмечены 1, реже 2 пучка, причем, один – крупный и вытянутый, второй – небольшой, яйцевидной формы. Проводящий пучок коллатерального типа, закрытый; состоит из участка флоэмы и участка ксилемы. Со стороны ксилемы пучок армирован участком механической ткани колленхимы.



1 – хлоренхима, 2 – эпидермис, 3 – флоэма, 4 – трихома, 5 – ксилема, 6 - колленхима

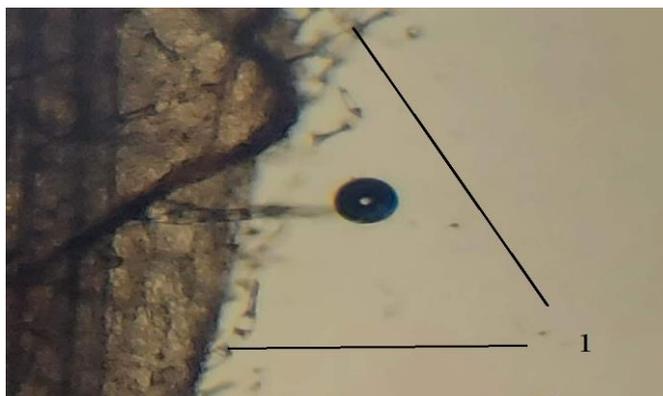
Рисунок 14 - Поперечный срез черешка листа *Origanum vulgare*. Ув. 4x16

Клетки эпидермиса цветка *Origanum vulgare* округлой формы, мелкие. По поверхности разбросаны многоклеточные трихомы, в верхней части венчика – редкие, в нижней – многочисленные (рисунки 15, 16).



1- трихомы, 2- эпидермис

Рисунок 15 - Поверхностный препарат цветка *Origanum vulgare*. (верхняя часть)
Ув. 4x16



1 трихомы

Рисунок 16 - Поверхностный препарат цветка *Origanum vulgare*. (нижняя часть)
Ув.4х16

Таким образом, идентификация сырья душицы обыкновенной полностью совпадает с ГФ РК (см. ГФ РК, т.2., с.699). В препарате листа душицы обыкновенной в нижнем эпидермисе имеются устьица, простые трихлмы, железистые трихомы и эфиромасличные железки.

4.3 Изучение фармацевтико-технологических параметров *Origanum vulgare* L.

Согласно ГФ РК т.1 были определены оптимальные значения технологических параметров, результаты приведены в таблицах 3 - 4.

Полученные результаты статистически были обработаны, проводилось три параллельных определения.

Таблица 3 – Технологические параметры сырья душицы обыкновенной

№	Параметры	Значения
1	Удельная масса, г/см ³	1,73±0,02
2	Объемная масса, г/см ³	0,52±0,02
3	Порозность, г/см ³	0,37±0,01
4	Свободный объем слоя сырья, г/см ³	0,81±0,01

Таблица 4 - Выход экстрактивных веществ сырья душицы обыкновенной

№	Растворитель (экстрагент)	Выход суммы экстрактивных веществ, %
1	Вода очищенная	39,2±1,03
2	Этанол (30%)	41,22±1,01
3	Этанол (50%)	47,21±1,02
4	Этанол (70%)	55,69±1,02
5	Этанол (90%)	35,47±1,01

Результаты определения фармакопейных качеств растительного сырья душицы обыкновенной представлены в таблице 5. Окончательный результат рассчитывался на основе трех параллельных испытаний.

Общая зола. Определение общей золы высушенного сырья проводили в соответствии с ГФ РК, т. I (2.4.16), вычисляли по формуле:

$$X = \frac{m_1 \cdot 100}{m_2} \quad (1)$$

где m_1 – масса золы, г;

m_2 – масса лекарственного растительного сырья/препарата, г.

Определение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте проводили по ГФ РК, т. I (2.8.1) «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте», вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(m_1 - m) \cdot 100}{m_2}, \quad (2)$$

где m_1 – масса золы, г;

m – масса золы фильтра, г (если золы последнего более 0,002 г);

m_2 – масса сырья, г.

Определение микробиологической чистоты сырья, субстанции и твердой лекарственной формы проводили по ГФ РК, т. I, 5.1.4 «Микробиологическая чистота».

Таблица 5 - Фармакопейные показатели качества сырья Душицы обыкновенной.

Номер	Идентификация	Посторонние примеси, %	Влажность, %	Общая зола, %	Зола нерастворимая в кислоте HCl, %	Микробиологическая чистота	Содержание экстрактивных веществ
Проба 1	Соотв.	1,35	5,35	8,7	0,89	Соотв.	67,13
Проба 2	Соотв.	1,42	5,29	8,5	0,87	Соотв.	66,25
Проба 3	Соотв.	1,39	5,31	8,7	0,86	Соотв.	67,09

В ходе исследования были определены содержание тяжелых металлов в растительном сырье душицы обыкновенной (стебель, листья, цветки) (таблица 6).

Таблица 6 – Определение тяжелых металлов в сырье душицы обыкновенной

№ пп	Номер образца лабораторный	Наименование участка	Определяемый компонент	Ед.изм.	Содержание компонента	Метод определения	НД на метод определения
1	19614	Душица обыкновенная	Мышьяк (As)	мг/кг	<0,1	АЭсИСП	МВИ №KZ.07.00.01 378-2016
2			Кадмий (Cd)	мг/кг	<0,05		
3			Медь (Cu)	мг/кг	13,8		
4			Железо (Fe)	мг/кг	863		
5			Никель (Ni)	мг/кг	1,7		
6			Свинец (Pb)	мг/кг	1,8		
7			Цинк (Zn)	мг/кг	33		

4.4 Разработка спецификации качества *Origanum vulgare L.*

Origanum vulgare L. – душица обыкновенная (орегано), многолетник из семейства губоцветных, высотой 35–80 см, с сильным ароматным запахом. Распространена в Европе (Восточной и Западной), в Республике Казахстан, на Алтае, в Средней Азии и во многих других местах. Наиболее ценным продуктом, получаемым из растений рода *Origanum L.*, непременно является эфирное масло.

Характерными компонентами для эфирного масла душицы, по мнению разных авторов, являются: моноциклические монотерпены мирцен, α -терпинен; бициклические α -пинен и β -пинен, монотерпеновые фенолы карвакрол и тимол и их метиловые эфиры [199].

Для исследования надземная часть (соцветия, цветочные корзинки, листья, тонкие стебли) душицы обыкновенной собрана в окр. Щучинска Акмолинской области в июле в 2019 г. в фазу полного цветения.

Результаты товароведческого анализа травы душицы обыкновенной в соответствии с ГФ РК приведены в таблице 7,8.

Таблица 7 - Спецификация качества растительного сырья надземной части травы душицы обыкновенной

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
1	2	3
Определение	Надземная часть высушенного лекарственного растительного сырья душицы обыкновенной. Запах резкий, специфический, вкус горьковатый.	ГФ РК, т.1, с.565 согласно общей статье "Трава"

Идентификация	<p>Цельное сырье. Цельные или частично измельченные цветоносные, олиственные стебли длиной до 20 см. Листья супротивные, черешковые, продолговато-яйцевидные, к верхушке заостренные, мелкозубчатые или почти цельнокрайние длиной 2 – 4 см, с белесыми волосками, расположенными, в основном, по жилкам, и коричневатыми блестящими точками (погруженные железки), главным образом, с нижней стороны. Стебли четырехгранные, опушенные или почти голые, вверху разветвленные. Соцветия щитковидно-метельчатые на концах ветвей, раскидистые, многоцветковые, состоят из компактных или удлинненно-колосовидных полумутовок, на цветоносах видны блестящие мелкие округлые железки. Прицветники длиннее чашечки, продолговатые или яйцевидные, острые, без железок. Чашечка с треугольно-ланцетовидными зубцами, снаружи с редкими волосками, блестящими округлыми железками и торчащими из зева белесыми волосками, которые растут с внутренней стороны чашечки по линии вдоль оснований зубцов. Цветки длиной 3 – 5 мм, венчик двугубый, слегка опушенный. Семена мелкие, длиной около 1 мм, округлые с заостренным кончиком.</p> <p>Цвет листьев сверху – зеленый, иногда с фиолетовым оттенком, снизу — светло-зеленый; стеблей — зеленый, коричневатозеленый, редко — светло-коричневый, как правило, с фиолетовым оттенком; цвет прицветников — зеленовато-фиолетовый, чашечки — зеленовато-фиолетовый или фиолетовый; венчика — коричневаторозовый, реже коричневый; семян — коричневый или светло-коричневый. Запах ароматный. Вкус водного извлечения горьковато-пряный, слегка вяжущий.</p> <p>Измельченное сырье. Кусочки стеблей, часто продольно-расщепленных, листьев, а также отдельные цветки и семена, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.</p>	ЕАЭС Ф 2.1.8.17 ГФ РК, т.1, с.565 ГФ РК, т.2, с.698
С. Качественная реакция - терпеноиды (тимол и карвакрол) - флавоноиды	<p>При добавлении ванилина в серной кислоте проявляется красно-фиолетовое окрашивание</p> <p>При добавлении хлорида железа проявляется ярко-желтое окрашивание</p>	В соответствии с НД
Посторонние примеси	Сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее). Цельное сырье, измельченное	ЕАЭС Ф 2.1.8.2 ГФ РК, т.1, 2.8.2.

	сырье – не более 7 %. Кусочки стеблей и боковых веточек, в том числе отделенные при анализе. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 40 %. Органическая примесь. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 1 %. Минеральная примесь. Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – не более 1 %.	
Потеря в массе при высушивании	Не более 14,0 %	ЕАЭС Ф 2.1.2.31 ГФ РК, т.1, 2.2.32
Общая зола	Не более 10,0 %	ЕАЭС Ф 2.1.4.16 ГФ РК, т.1, 2.4.16
Зола, нерастворимая в 10 % кислоте хлороводородной	Не более 5 %	ЕАЭС Ф 2.1.8.1 ГФ РК, т.1, 2.8.1.
Микробиологическая чистота	Лекарственное растительное сырье должен соответствовать ГФ РК, т.1, 5.1.4, категория 4 А -Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов: не более 10^7 бактерий и не более 10^5 грибов в 1 г -Не допускается наличие <i>Escherichia coli</i> .	ЕАЭС Ф 2.3.1.4 ГФ РК т. I, 2.6.12, 2.6.13
Количественное определение: -карвакрола	Не менее 60%	ГФ РК т.1, 2.2.25 ГФ РК т.1, 2.2.28
Радионуклиды	В соответствии с требованиями Государственного органа	ГФ РК т.1, с.564
Тяжёлые металлы	В соответствии с требованиями государственного органа	ЕАЭС Ф 2.1.4.21 ГФ РК т.1, 2.4.8, метод А, ГФ РК т.1, с.564
Упаковка	Сырье по 5 кг упаковывают в мешки из крафт-бумаги, трехслойные.	В соответствии с ГОСТ 2228-81
Маркировка	В соответствии с утвержденными требованиями к маркировке.	В соответствии НД
Хранение	В защищенном от света месте при температуре не выше 25 С ⁰	В соответствии НД РК
Срок хранения	2 года	В соответствии НД РК
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90Е	В соответствии НД
Основное фармакологическое действие	Противокариесное, противомикробное, противовоспалительное	В соответствии НД РК

Выводы по четвертому разделу

Сбор и заготовка растительного сырья душицы обыкновенной были осуществлены согласно Надлежащей практике сбора лекарственных растений в окр. г. Щучинск Бурабайского района Акмолинской области ($52^{\circ}56'$ с. ш. $70^{\circ}12'$ в.д.) и в Восточно-Казахстанской области.

В связи с тем, что эксплуатационные запасы душицы обыкновенной находятся в пределах от 4.3 – 22.9 тонн, то рекомендовано ежегодно собирать сырье в казахстанской части Алтая, а именно в окрестностях горных хребтов Ивановский ($12.9+0.9$), Нарын ($16.5+1.9$), Листвяга ($22.99+1.7$) тонн. Общая площадь зарослей душицы обыкновенной в ВКО составляет 120,8 га с плотностью запаса сухого сырья – 25.6 ц/га.

Заготовку сырья *Origanum vulgare* L. рекомендовано производить сушку сырья на открытом воздухе без воздействия прямых солнечных лучей, размещая его на сушильных рамах слоями в 10 – 15 см при температуре не выше 18°C .

Диагностическими признаками сырья душицы обыкновенной являются форма и расположение листьев на стебле, ветвистость побегов и их окраска. Четырехгранные, прямые, в верхней части - разветвленные. Форма и размер листовых пластин, форма края, верхушки и основания, цвет нижней и верхней стороны, степень опушения, расположение железок. Листья продолговатые, супротивные, черешковые, цельнокрайные, на верхушке заостренные, обе стороны окрашены в зеленый цвет.

Исследованы фармацевтико-технологические параметры сырья душицы обыкновенной для оптимальной технологии экстрагирования: удельная масса ($1,73\pm 0,02 \text{ г/см}^3$), объемная масса ($0,35\pm 0,01 \text{ г/см}^3$), порозность ($0,37\pm 0,01 \text{ г/см}^3$), свободный объем слоя сырья ($0,81\pm 0,01 \text{ г/см}^3$), коэффициент поглощения экстрагента (3,45).

Для мажорного выхода суммы экстрактивных веществ выбран спирт этиловый (70%) с оптимальным выходом 55,69%.

5 РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ И ПРОТИВОКАРИЕСНОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*ORIGANUM VULGARE L.*)

5.1 Выделение эфирного масла душицы обыкновенной и изучение его химического состава

Основными составляющими эфирного масла *O. vulgare* являются кариофиллен оксид, спатуленол, 4-терпинеол [200-202]. Полученное эфирное масло *O. vulgare* - подвижная бесцветная жидкость, выход составляет 0,13 %, n_D^{16} 1,489. Основными компонентами эфирного масла являются гермакрен D - 17.32% и кариофиллен - 16.85%.

Из воздушно-сухой массы растительного сырья душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) было выделено эфирное масло методом гидродистилляции с использованием аппарата Клевенджера. В течение 3 часов проводили гидродистилляцию, гексан использовали в качестве растворителя для сбора эфирного масла. Методом ГХ-МС определяли качественный состав и количественное содержание компонентов эфирного масла душицы обыкновенной (таблица 9). Выход эфирного масла – 0.5%.

№	Время удерж., мин.	Компонент	Содержание, % от цельного масла
1	2	3	4
1	10.715	α -туйен	2.672
2	10.931	α -пинен	1.723
3	11.465	α -фенхен	0.501
4	12.940	β -терпинен	0.222
5	12.699	1-додецен – 3- ол	0.104
6	12.973	Терпин	0.080
7	13.103	β -мирцен	2.295
8	13.507	β -туйен	0.205
9	13.709	γ -карен	0.116
10	13.940	α -терпинен	1.505
11	14.221	<i>o</i> -цимен	15.737
12	14.359	D-карвакрол	0.615
13	15.398	γ -терпинен	6.740

14	15.665	Изотерпинолен	0.156
15	18.810	Эндоборнеол	0.377
16	19.164	Терпинен-4-ол	0.535
17	21.134	Тимол метил	0.128
18	22.750	Карвакрол	65.435
19	25.961	Изокариофиллен	0.854

Буровато-желтую прозрачную жидкость, с сильным ароматическим запахом представляет собой масло *Origanum vulgare*. Мощный, свежий, согревающий, пряный, пронизывающий, травянистый, горьковатый аромат.

Определены основные компоненты эфирного масла душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), хроматографическим анализом, это - о-цимен (15.737%), карвакрол (65.435%), также в значительных концентрациях β -мирцен (2.295), α -гуйен (2.672%), γ -терпинен (6.740%). В малом количестве обнаружены α -терпинен (1.505%), α -пинен (1.723%), и α -фенхен (0.501%) (рисунок 17).

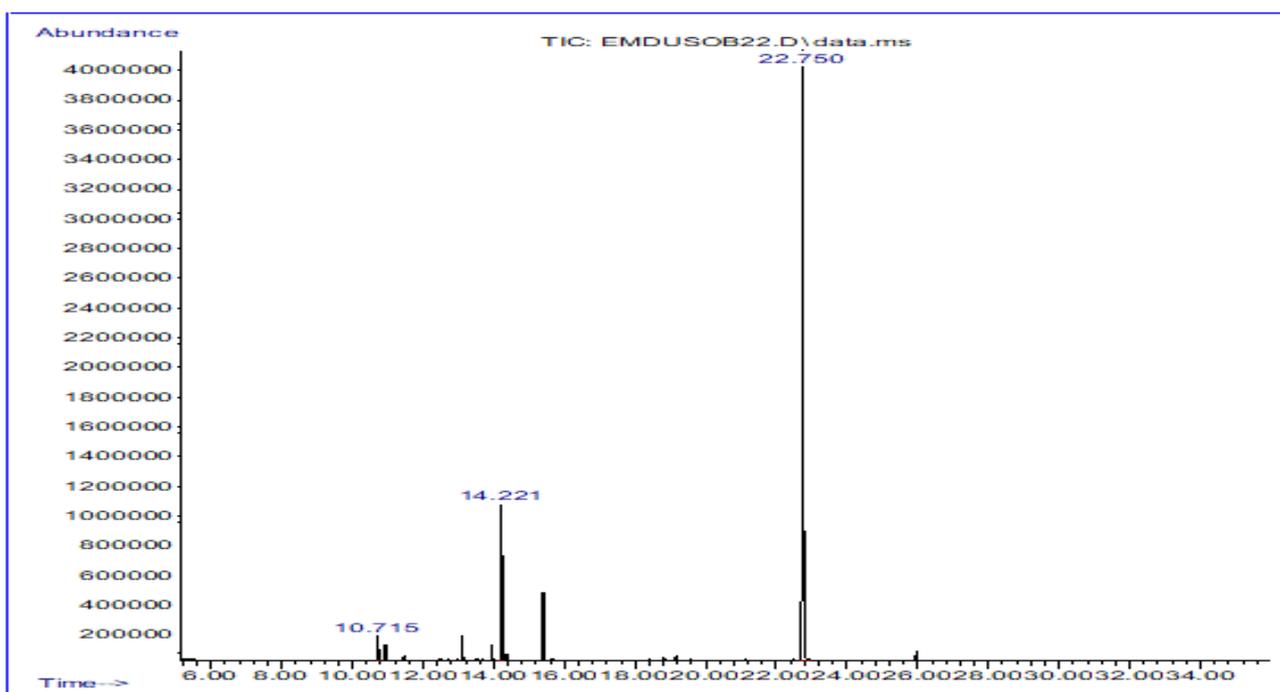


Рисунок 17 – ГХ-МС эфирного масла душицы обыкновенной, собранной в окр. г. Щучинска Акмолинской области

Содержание эфирного масла в растительном сырье душицы обыкновенной определяли с использованием методик, представленных в Государственных Фармакопеях Республики Казахстан, Российской федерации и описанных в работе [203].

Выход эфирного масла из душицы обыкновенной составил 0,5 % в пересчете на воздушно-сухое сырье. По результатам изучения компонентного состава эфирного масла методом хромато-масс-спектрометрии, установлено, что основными компонентами являются карвакрол (до 80 %).

При исследовании эфирных масел дикорастущей душицы обыкновенной из различных мест произрастания выявлено, что качественный состав и количественное содержание меняются, но основной компонент остается неизменным. Например, в эфирном масле душицы обыкновенной, собранной в окр. г. Риддер Восточно-Казахстанской области монотерпеноид карвакрол является основным компонентом (таблица 10, рисунок 18)

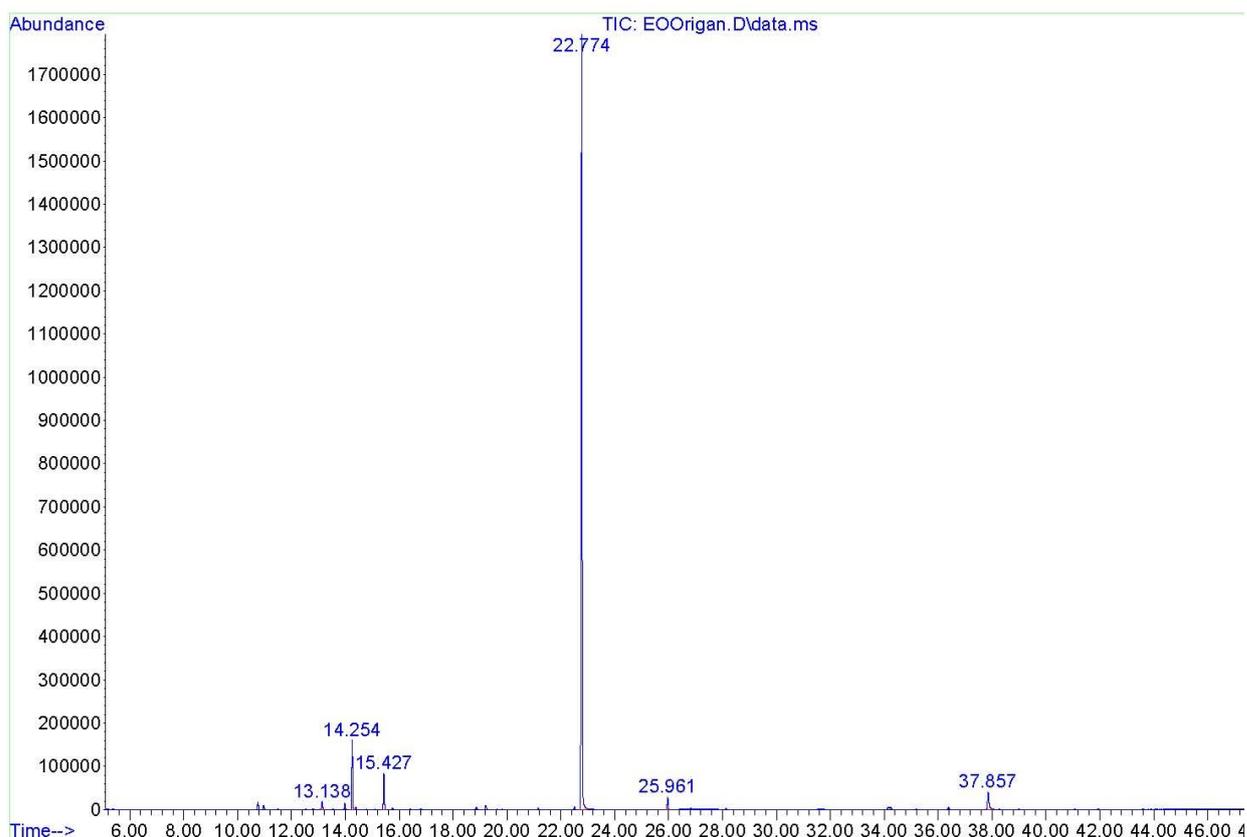


Рисунок 18 - ГХ-МС эфирного масла душицы обыкновенной, собранной в Восточно-Казахстанской области

Таблица 10 - Химический состав эфирного масла душицы обыкновенной, собранной в ВКО

№	RT, мин	Компонент	Содержание, %
1	13.138	β-мирцен	0.838
2	14.254	о-цимен	7.431
3	15.427	γ-терпинен	3.763
4	22.774	карвакрол	83.688
5	25.961	транс-кариофиллен	1.274
6	37.857	неидентифицированный компонент	3.005

Сотрудники Казахского НИИ лесного хозяйства и агролесомелиорации им. А.Н. Букейхана занимаются возделыванием душицы обыкновенной, разработана технология выращивания.

Химический состав эфирного масла душицы обыкновенной, культивируемой в Бурабайском районе Акмолинской области, резко отличается от дикорастущей. Эфирное масло светло-желтого цвета с приятным запахом с выходом 0,6 %. Эфирное масло насчитывает 57 компонентов. Основными являются оцимен, терпинен, кариофиллен и гермакрен Д (рисунок 19).

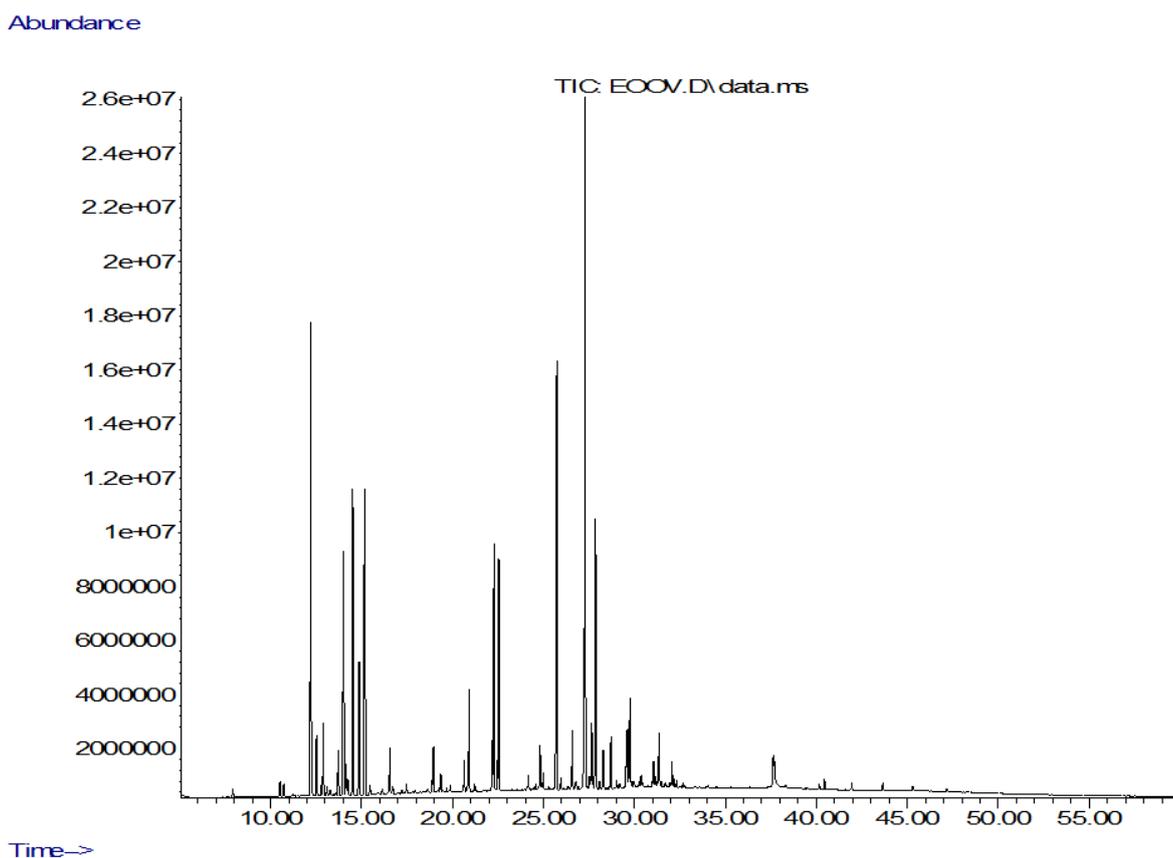


Рисунок 19 – ГХ-МС эфирного масла культивируемого вида душицы

В эфирном масле душицы обыкновенной, произрастающей в окр. с. Поперечное Восточно-Казахстанской обл, основными являются (%): α -терпинеол -8.82, (-)-спатуленол – 8.18, оксид кариофиллена – 18.63 (таблица 11).

Таблица 11 – Химический состав эфирного масла дикорастущей душицы

№	ВУ	Содержание, %	Наименование	Вероятность идентификаци и
1	6.16	1.0330	1-октен-3-ол	90
2	7.68	0.4953	<i>n</i> -цимен	95
3	7.28	1.79	1,8-цинеол	97
4	8.30	0.6562	цис- β -терпинеол	94
5	8.20	0.1929	(<i>Z</i>)-линалоол оксид	90
6	8.41	0.2259	Цис-линалоол оксид	86
7	9.1441	6.50	Линалоол формат	97
8	10.72	0.4312	цис- <i>p</i> -мент-2-ен-1-ол	96
9	10.1343	0.5145	Транс- <i>p</i> -мент2-ен-ол	70
10	10.34	0.9019	3-гидроксипиколеновая кислота	27
11	11.0474	6.64	(-)-терпинен-4-ол	97
12	11.1795	0.4270	<i>n</i> -цимен-8-ол	87
13	11.45	8.82	α -терпинеол	80
14	11.45	0.3616	<i>n</i> -мент-2-ен -	70
15	11.76	0.2236	<i>n</i> -мент-1-ен-3-ол	83
16	12.67	0.2080	пропаналь, 2-метил-3-фенил-	95
17	13.1158	0.2090	1,2,4,4-терапиметилциклопентен	38
18	13.5669	1.80	3-метил-4-изопропилфенол	87
19	13.9520	0.6629	3-октен-2-он, 7-метил-	38
20	15.3932	0.2281	Бутил изобугират	64
21	15.7783	1.77	(-)- β -бурбонен	96
22	15.8553	0.3794	элемен	83
23	16.0863	0.2001	1,5,5-триметил-6-метилен-цикогексен	45
24	16.5484	5.53	кариофиллен	99
25	16.7245	0.2387	(3aS,3bR,4S,7R,7aR)- β -кубебен	94
26	16.9885	0.2342	цис-геранилацетон	78
27	17.2525	1.89	1,4,7-циклоундекатриен, 1,5,9,9-тетраметил-, <i>Z,Z,Z</i> -	98
28	17.4066	0.4431	(+)-спатуленол	99
29	17.6706	0.3284	Транс-гамма-кадинен	96
30	17.8027	0.5627	(-) - спатуленол	64
31	18.1327	0.3572	7-эпи- α -кадинен	94
32	18.2317	2.1653	β -бисаболен	95
33	18.4518	0.4691	муурола-4,9-диен	97
34	18.5178	0.1874	2,5,9-тетрадекатриен, 3,12-диэтил-	53
35	18.5948	0.8910	α -аморфен	94
36	19.0349	0.3443	нафтален, 1,2-дигидро-1,1,6-триметил-	72

37	19.2659	1.23	циклогексен, 4-метил-1-(1-метилэтинил)-	42
38	19.4309	0.3075	нафтален, 1,2-дигидро-1,1,6-триметил-	35
39	19.5740	0.2735	Е-мууролен	44
40	19.8160	8.1737	(-)-спатуленол	93
41	19.9480	18.6314	Оксид кариофиллена	91
42	20.0911	0.7190	γ-гуржунен	83
43	20.2121	0.2634	спатуленол	55
44	20.2891	0.2565	ледол	90
45	20.4101	3.46	3,4-диметил-3-циклогексенилметаналь	86
46	20.5752	0.2210	9-метил-S-октагидроантрацен	70
47	20.7072	0.3007	иланген	46
48	20.8282	0.4179	неодигидрокарвеол	46
49	20.9052	0.8844	Не идентифицировано	81
50	21.0262	0.8232	Гамма-мууролен	53
51	21.1253	0.2813	элемен	53
52	21.2133	3.27	α-кадинол	98
53	21.5213	2.58	Z-3-гексадецен-7-ин	64
54	21.8184	1.35	лонгифолен	35
55	21.9614	0.7207	спиро[4.5]декан-7-он, 1,8-диметил-8,9-эпокси-4-изопропил-	35
56	22.4345	0.3952	Кариофиллен оксил	52
57	22.7535	0.2682	7-ацетил-2-гидрокси-2-метил-5-изопропилбицикло[4.3.0]нонан	72
58	22.8746	0.2139	Тетрадекаиновая кислота	93
59	23.3146	0.2014	1-формил-2,2,6-триметил-3-цис-(3-метилбут-2-енил)-5-циклогексен	46
60	23.4027	0.2233	1-метил-6-метиленбицикло[3.2.0]гептан	64
61	23.5347	0.4178	9-борабицикло[3.3.1]нонан, 9-(2-пропен-1-илокси)-	70
62	23.7877	0.3111	эпи-α-цедрен эпоксид	35
63	24.0408	0.6240	1-формил-2,2-диметил -3-trans-(3-метил-бут-2-инил)-6-метилен-циклогексае	38
64	24.3048	0.5125	n-пропил бензоат	49
65	24.3488	0.4732	2-пентадеканон, 6,10,14-триметил-	72
66	24.5249	0.4066	(-)-неокловен-(I), дигидро-	46
67	24.8989	0.4308	1,8-нонадиен, 2,7-диметил-5-(1-метилинил)-	38
68	25.2510	0.3461	элемен	38
69	25.6691	0.3509	3-циклопентилпроиновая кислота	50
70	26.2742	1.54	n-гексадеканоиновая кислота	99
71	28.6726	0.3398	Фитол	90
72	38.8164	0.2968	Циклотетракозан	93

В зависимости от хемотипа эфирное масло душицы обыкновенной содержит различный химический состав, в основном, обогащенный такими

терпенами, как 1,8-цинеол, кариофиллен, оксид кариофиллена и т.д. Например, в эфирном масле душицы обыкновенной, произрастающей в окр. с. Поперечное Восточно-Казахстанской обл, основными являются (%): α -терпинеол -8.82, (-)-спатуленол – 8.18, оксид кариофиллена – 18.63 (рисунок 20). Состав сильно отличается от дикорастущего вида душицы обыкновенной, произрастающей в том же районе ВКО, но только возле горного хребта Ивановский.

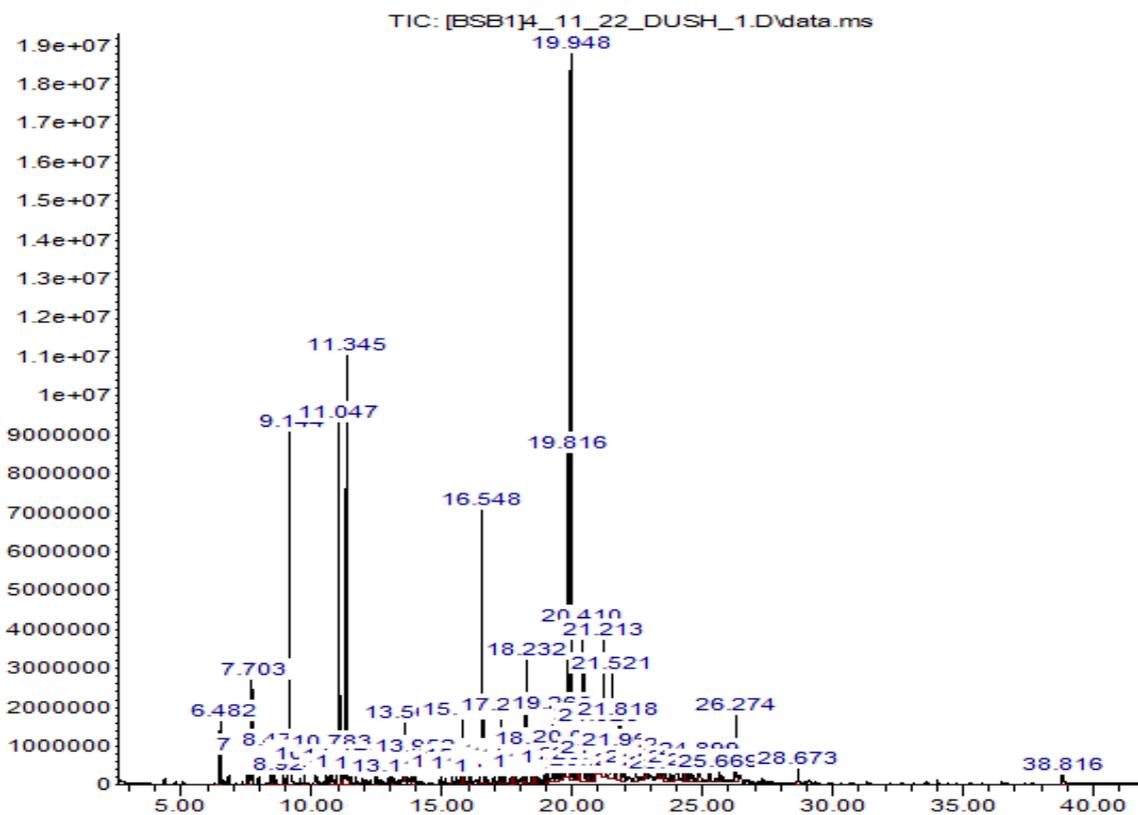


Рисунок 20 – ГЖ-МС эфирного масла душицы обыкновенной, произрастающей в окр. с. Поперечное ВКО

Проведено исследование состава эфирного масла *Origanum vulgare* L., собранной в 3 местах естественного произрастания и культивируемой в фазе полного цветения. Методом хромато-масс-спектрометрии исследован состав 4 образцов эфирных масел душицы обыкновенной. Выявлено несколько хемотипов, в первом из них доминирующим компонентом среди является карвакрол, во втором главными высококипящими компонентами являются кариофиллен и его оксид. Для наработки и получения биологически активного эфирного масла с мажорным компонентом карвакролом рекомендовано использовать казахстанское дикорастущее сырье, произрастающее в окр. г. Щучинск Акмолинской области и окр. г. Риддер Восточно-Казахстанской области.

5.2 Методы получения субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой»

5.2.1 Получение этанольного экстракта травы душицы обыкновенной

Этанольная экстракция *Origanum vulgare* L. проведена следующим образом, 1 литром 96% этилового спирта заливали 50 грамм сухого измельченного сырья (1:20) и настаивали сутки. Отфильтровав, концентрировали экстракт на ротационном испарителе ИЛ-1ЛТ, этанольно – водную смесь перегнали. На водяной бане при температуре 80° до получения густого экстракта выпаривали в фарфоровой выпарной чаше сконцентрированный экстракт. В итоге получили сухой экстракт с приятным запахом и темно-зеленым цветом. Экстракты были получены при настаивании водой, 30%, 50%, 70% и 96% этиловым спиртом.

По результатам исследования химического состава травы растений рода душицы, представленных в литературе, установлено наличие кверцетина, гликозидов апигенина, лютеолина и преобладающим среди них является розмариновая кислота. Сравнение УФ-спектров поглощения ультразвукового экстракта душицы обыкновенной с алюминия хлоридом и розмариновой кислоты с алюминия хлоридом показало, что оба раствора имеют максимум поглощения при 330 нм, поэтому в качестве стандартного образца выбрана розмариновая кислота.

Количественное определение суммы фенилпропаноидов проводили спектрофотометрическим методом (ГФ РК, т.1, 2.2.25)

Точную навеску 0,03 г экстракта в мерной колбе 25 мл, приливают 15 мл спирта этилового 70% и растворяют, затем тем же растворителем доводят до метки объем раствора и перемешивают.

В мерную колбу объемом 25,0 мл помещают 2,5 мл испытуемого раствора, приливают раствора 5% алюминия хлорида 5,0 мл, в 70% этиловом спирте, выдерживают 10 минут и далее приливают 1,0 мл раствора 3% уксусной кислоты. 70% этиловым спиртом объем полученного раствора доводят до метки и на 30 минут оставляют. Далее проводят измерение оптической плотности полученного раствора на спектрофотометре в кювете с толщиной рабочего слоя 10,0 мм при 395 нм длине волны (рисунки 21,22).

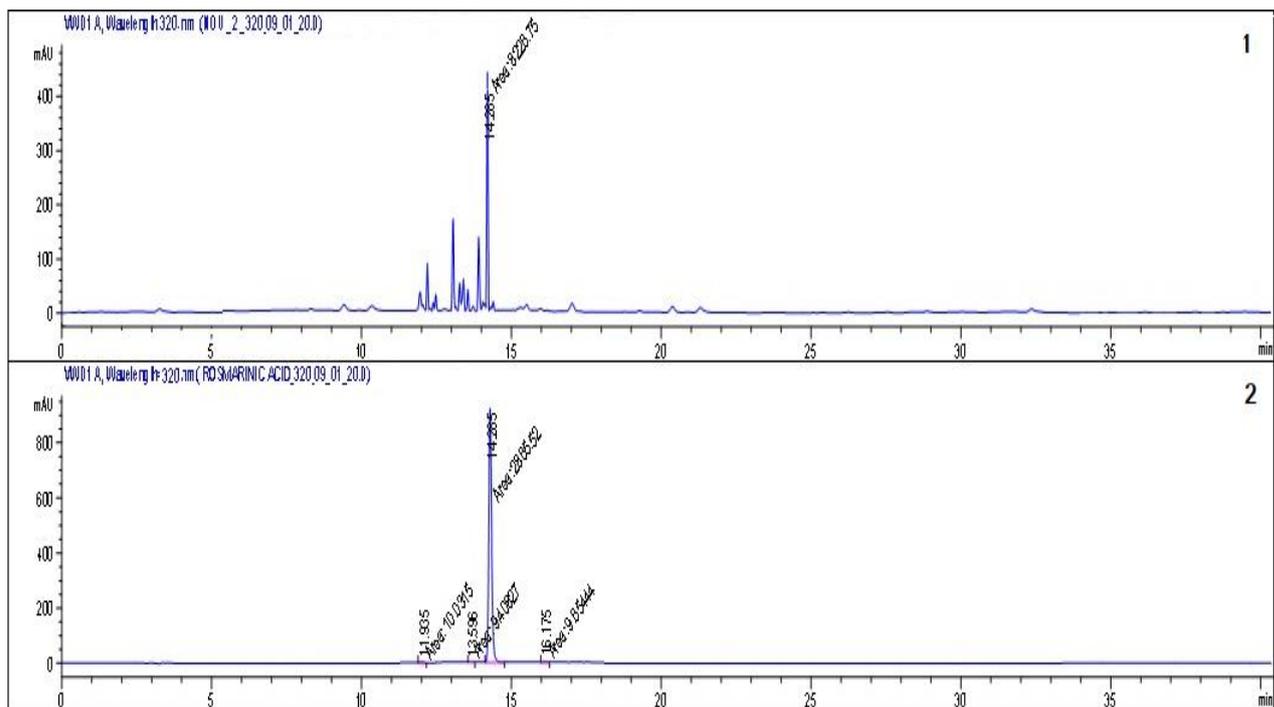


Рисунок 21 - Хроматограммы ВЭЖХ-УФ: 1- ультразвукового экстракта душицы обыкновенной, 2 – стандартного образца розмариновой кислоты

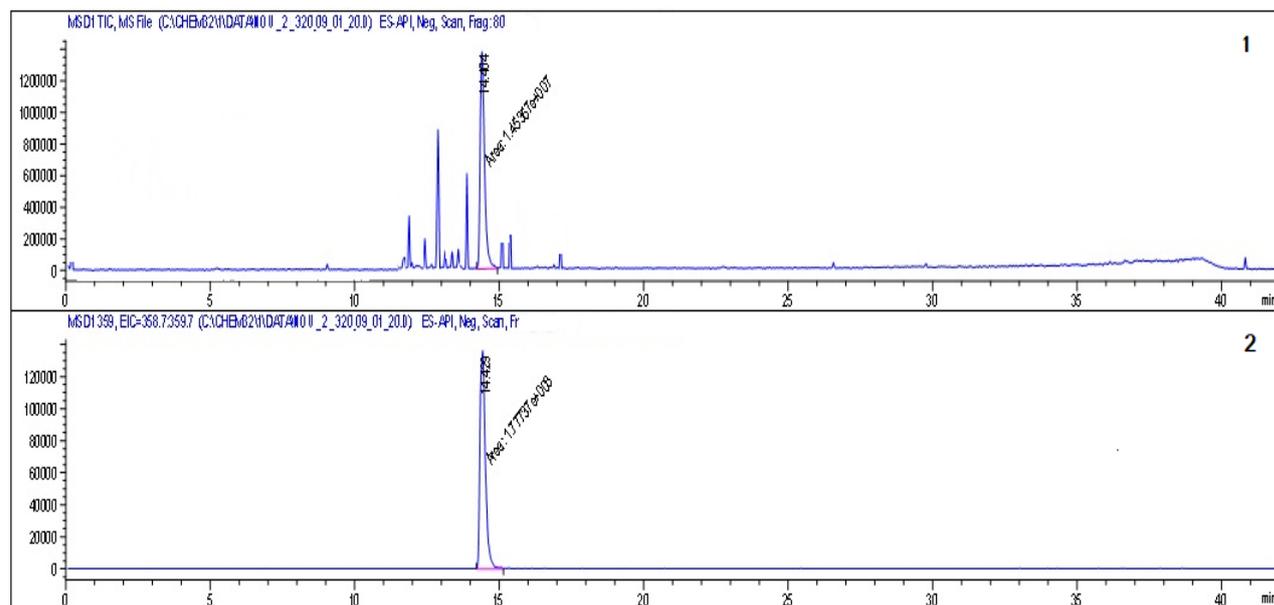


Рисунок 22 - Хроматограммы ВЭЖХ-МС/МС идентифицированной розмариновой кислоты (2) в ультразвуковом экстракте душицы обыкновенной (1)

Раствор, который состоит из 2,5 мл испытуемого раствора и 1,0 мл раствора 3% уксусной кислоты и доведенный 70% этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25,0 мл, выступает в качестве раствора сравнения.

По следующей формуле рассчитывают в процентах (X) фенолпропаноидов пересчитывая на кислоту розмариновую:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{345 \cdot V \cdot m};$$

где D – оптическая плотность исследуемого раствора при длине волны 395 нм;

345 – удельный показатель поглощения розмариновой кислоты с алюминия хлоридом в спирте этиловом 70%;

V – аликвота испытуемого раствора, в мл;

m – масса навески экстракта, в граммах.

Содержание суммы фенолпропаноидов в экстракте душицы обыкновенной составило 6,94 %.

5.2.2 Получение экстракта душицы обыкновенной, полученного в результате ультразвуковой кавитации

Экстракция с помощью ультразвука вызывает растущий интерес из-за ее больших преимуществ для экстракции биологически активных соединений из видов растений. На эффективность ультразвука влияют различные факторы, такие как температура экстракции, время экстракции, интенсивность ультразвуковых волн и тип ультразвуковой системы.

Для извлечения фенольных соединений из ароматических ранее использовались традиционные методы экстракции (например, перколяция, мацерация и экстракция по Сокслету). Однако, хотя эти методы предлагают простой подход, для извлечения значительного количества ценных соединений может потребоваться использование большого количества загрязняющих растворителей и энергии, длительное время экстракции и относительно высокие температуры, что может привести к потерям термолабильных фенольных соединений, а также привести к совместной экстракции других нежелательных побочных компонентов.

Эти недостатки побуждают ученых исследовать более устойчивые, эффективные и быстрые методы экстракции, основанные на подходе «зеленой экстракции». С этой точки зрения, использование ультразвука которые вызывают ослабление или разрушение клеточной оболочки (мембраны и стенки), окружающей растительную клетку, показало большой потенциал для улучшения выхода и кинетики экстракции целевых внутриклеточных соединений из растительных матриц с уменьшенным потреблением растворителя, времени и энергии.

Применение УЗ при извлечении ценных соединений из биоматериала в основном использует эффекты акустической кавитации, возникающей в растворителе при прохождении УЗ волн в диапазоне от 18 до 200 кГц, что

увеличивает поверхностный контакт между растворителями и тканями растений и проницаемостью клеточных стенок. Это ускоряет диффузию растворенных веществ из твердой фазы в растворитель и последующую диффузию. Этот метод обеспечивает эффективность экстракции при работе в оптимальных условиях, что позволяет избежать, например, чрезмерного нагрева обрабатываемого образца.

Обработка ультразвуком улучшает эффективность и скорость экстракции, снижает необходимую температуру, позволяет растворителям сохраняться и способствует растворению целевых соединений

Вследствие этих эффектов требуется меньше времени на экстракцию, чем в обычном экстракционном процессе. Впервые для извлечения БАВ из травы душицы обыкновенной применена ультразвуковая экстракция. Измельченное сухое сырье душицы обыкновенной (20.0 г) помещают в колбу и заливают экстрагентом (вода, этиловый спирт, смесь воды и спирта) в соотношении сырье: растворитель=1:20. Ультразвуковую экстракцию сырья проводили на установке Ultrasonic cleaner Sonic-3 при частоте ультразвукового излучения 40 кГц, при комнатной температуре (20-22 °С), в течение 30 минут. Затем жидкий экстракт сливали и экстракцию повторяли еще 2-3 раза до полной экстракции. Получены экстракты на основе 30%, 50%, 70% и 90% этилового спирта и воды.

Полученные объединенные жидкие экстракты душицы обыкновенной фильтровали через бумажный фильтр. Фильтрат жидкий заливали в ротонный испаритель и проводили упаривание экстрагента при температуре 50 °С, получили густой экстракт душицы. Остаточный растворитель из густого экстракта выпаривали на водяной бане при температуре 60 °С. Получены сухие ультразвуковые экстракты душицы обыкновенной, которые представляют собой сыпучую массу темно-зеленого цвета со специфическим запахом.

5.2.3 Получение экстракта душицы обыкновенной, полученного в результате микроволновой экстракции

Объем мирового рынка полифенолов оценивался в 1,6 млрд долларов США в 2021 году и ожидается, что совокупный годовой темп роста в период с 2022 по 2030 год будет расти на 7,4%. Высокий спрос на продукт объясняется различными преимуществами для здоровья, которые он предлагает, например: в качестве профилактики рака, диабета, старения и т.д. Полифенолы используются в продуктах питания и напитках, которые добавляют в рацион питательные вещества, витамины, минералы и т. д. Полифенолы — это микроэлементы и фитохимические вещества с антиоксидантными свойствами [204].

В последнее время полифенольные соединения из растений извлекают с помощью микроволнового экстрактора. Это связано с тем, что традиционные методы экстракции требуют большего объема растворителей, разлагают термочувствительные биологически активные соединения и требуют много времени для экстракции.

Микроволновая экстракция - один из современных методов, в котором используется сокращенное время экстракции, минимальное потребление

растворителя и безопасные термолабильные соединения. Это зеленая технология, которая эффективна для извлечения биологически активных соединения из растительных образцов. Этот метод предусматривает два подкласса: микроволновая экстракция без растворителя и микроволновая экстракция растворителем. Микроволновое облучение использует определенную частоту электромагнитного поля, что близко к фотохимически активируемой реакции; частота находится между 300 МГц и 300 ГГц. Тем не менее, для медицинских, научных и промышленных целей разрешено несколько частот; во всем мире это находится в пределах 0,915 и 2,45 ГГц. Диэлектрический нагрев подходит для термочувствительных биоактивных соединений (рисунки 23, 24).

В качестве растительного сырья нами использована надземная часть душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*), собранной в окр. г. Щучинск Акмолинской области в фазу цветения в 2019 году.

В круглодонную колбу емкостью 500 мл, помещали воздушно сухое сырье душицы (листья и цветки) массой 10 г., снабженную высокоэффективным прямым холодильником 400 мм 29/32. В колбу с сырьем добавляли 100 мл экстрагента. В качестве экстрагента нами выбраны вода, 50%, 70% и 90% водно-этанольные расворы. Соотношение сырья и растворителя 1:10. Колба с сырьем и растворителем погружается в микроволновой реактор. Условия проведения эксперимента: мощность облучения 300 Вт., время облучения 3 минуты, время экспозиции 30 сек. Экстракция каждой порции сырья проводилась 4 раза, после чего полученная смесь была отфильтрована. Полученный фильтрат каждой порции объединяли для дальнейшего сгущения на роторном испарителе.

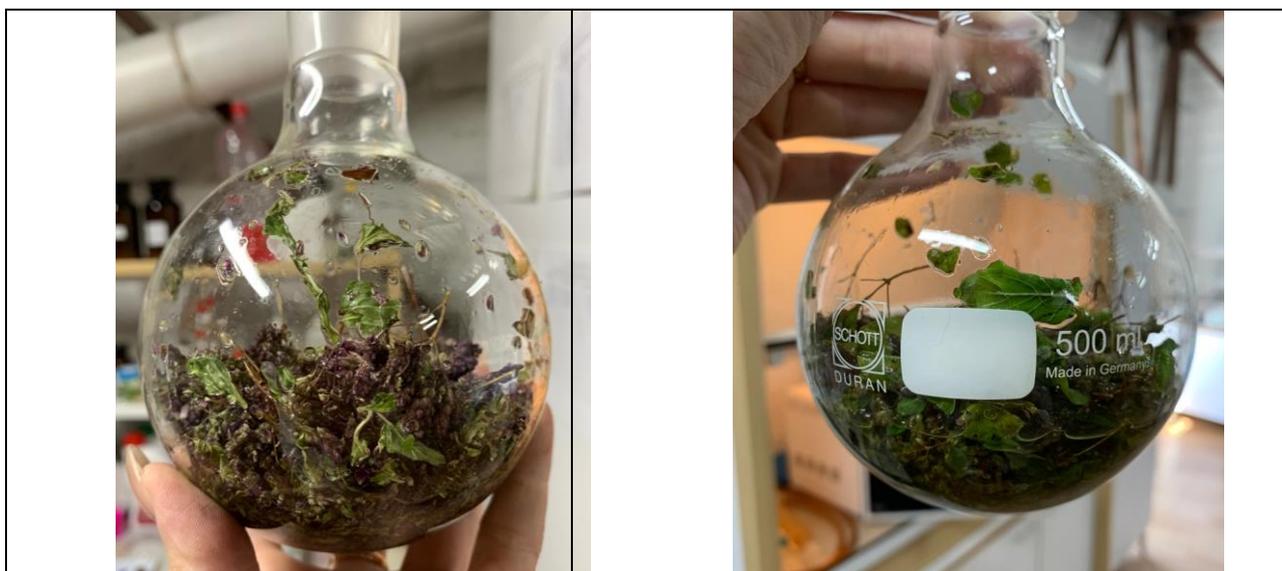


Рисунок 23- Подготовительные работы перед микроволновой экстракцией



Рисунок 24 - а – микроволновая лабораторная печь, б – процесс микроволновой экстракции

Были получены экстракты из душицы обыкновенной и традиционными методами. Экстрагенты - вода, спирт этиловый в разных концентрациях (30%, 50%, 70% и 96%). 20,0 г. травы душицы обыкновенной измельчили (3-5 мм) и экстрагировали методом настаивания добавив двадцатикратное количество воды или спирта этилового. Для получения большей концентрации проводили трех этапную экстракцию: на первой и второй настаивали сырье в течение двух суток при комнатной температуре, на третьем этапе проводили термическую экстракцию, длительностью 1 час с холодильником обратным, при 90 °С. Под вакуумом упаривали полученные жидкие экстракты при температуре не выше 60 °С. Выходы представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Выходы экстрактов душицы обыкновенной, полученных различными методами экстракции

Экстрагирован ие	Экстрагент, выход %					Тем-ра/ Мощ.об	Масса, г	Соот.
	Вода	30% этанол	50% этанол	70% этанол	90% этанол			
Традиционный	25,4	22	23,7	25,6	15,3	25 ⁰ С	20г	1:20
Ультразвуково й	27,6	23,8	25,8	26,9	16,6	25 ⁰ С		
СВЧ	26,9	22,6	24,4	25,3	16,25	300 Вт		

Таким образом, для последующей наработки и получения субстанции субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» необходимо использовать метод ультразвуковой методы и для экстракции использовать 70% этиловый спирт для получения максимального выхода биологически активныз веществ.

СВЧ-метод также позволяет максимально извлечь биологически активные вещества при экстракции водой, но предусматривалось, что вода, используемая для извлечения фенольных соединений неэффективна и в микроволновой экстракции, рекомендуется использовать растворители с более высокими коэффициентами рассеяния и диэлектрической проницаемости.

5.3 Разработка технологии субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой»

Основное назначение продукта: сухой экстракт душицы обыкновенной, полученный в условиях ультразвуковой кавитации, является субстанцией антимикробного, противокариесного средства в виду стоматологического геля, а также представляет интерес в качестве источника розмариновой кикслоты – действующего начала противовоспалительного данного средства.

Описание: сухой экстракт душицы обыкновенной получен из надземной части методом ультразвуковой экстракцией 70% этиловым спиртом и представляет собой сухой сыпучий порошок темно зеленого цвета с сильным резким запахом.

1ЭТАП: Подготовка сырья, экстрагента

Сушка травы душицы обыкновенной

Надземная часть (соцветия, цветочные корзинки, листья, стебли) сушится в специализированном невлажном помещении, куда не попадают прямые солнечные лучи и хорошо циркулирует воздух.

Измельчение сырья душицы обыкновенной

Крупные стебли убираются, на ножевой мельнице листья, цветочные корзинки измельчаются до 5-10 мм., тем самым, не повреждая эфиромасличные железки.

Просевка сырья душицы обыкновенной

Через сита с диаметром отверстий 5-10 мм просеивают сухое измельченное сырье душицы обыкновенной.

Проводится стандартизация сухого измельченного просеянного сырья душицы обыкновенной на соответствие требованиям проекта НД РК

Определение массы сырья

Сухое измельченное просеянное сырье душицы обыкновенной взвешивают на весах электронных ВК-300 по 20,0 г

Приготовление экстрагента

В бутыль объемом 2 литра приливают по 1000 мл г 96 %-ного этанола и 371 г воды очищенной, перемешивают. Общая масса экстрагента 1371 мл раствора 70%.

2 ЭТАП: Получение жидкого экстракта

Загрузка сырья и экстрагента

Для экстрагирования сырья 20,0 г душицы обыкновенной, помещают в колбу, после заливают заранее приготовленным экстрагентом – смесь спирта этилового: вода 400 мл, соотношение объема экстрагента и массы сырья 1:20.

Экстракция сырья

Для ультразвуковой экстракции сырья *Origanum vulgare* используют установку Ultrasonic cleaner. Устанавливается частота излучения 40 кГц, время 30 минут, температура (20-22°C), после слива жидкого экстракта, процесс дублируют 2 раза.

Фильтрация жидкого экстракта

Объединенный жидкий экстракт душицы обыкновенной фильтруют через бумажный фильтр.

Упаривание экстрагента

Жидкий экстракт заливают в роторный испаритель. В роторном испарителе проводится упаривание экстрагента при температуре 50°C

3 ЭТАП: Получение субстанции

Упаривание остаточного растворителя

Из густого экстракта выпаривают остаточный растворитель на водяной бане при температуре не выше 60°C.

Выход субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» составляет 26,9 % в пересчете на воздушно-сухое сырье.

Проводится стандартизация субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» на соответствие требованиям проекта НД РК

Взвешивание субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой»

Полученную субстанцию «Душицы обыкновенной экстракт сухой» взвешивают по 5,0 г

4 ЭТАП: Упаковка и маркировка

Фасовка

Продукт упаковывают по 5 г во флаконы из стекла типа АБ-1 или НС-1 (объем флаконов 10 мл) по ТУ 9461-025-00480678-99. Флаконы укупорены резиновыми пробками, изготовленными по ТУ 38006108-76 следующих марок ИР-119, ИР-119А (серого или черного цвета). Крышка и часть горловины закатываются алюминиевыми колпачками. На флаконах наклеены этикетки из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86. Групповая упаковка и транспортная тара по ГОСТ 17768-90Е.

Маркировка

На этикетке указано наименование и адрес предприятия-изготовителя, его товарный знак, название препарата на латинском, государственном и русском языках, количество препарата, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности (рисунок 25). Надписи на упаковочном листе соответствуют ГОСТ 17768-90Е. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96 [205].

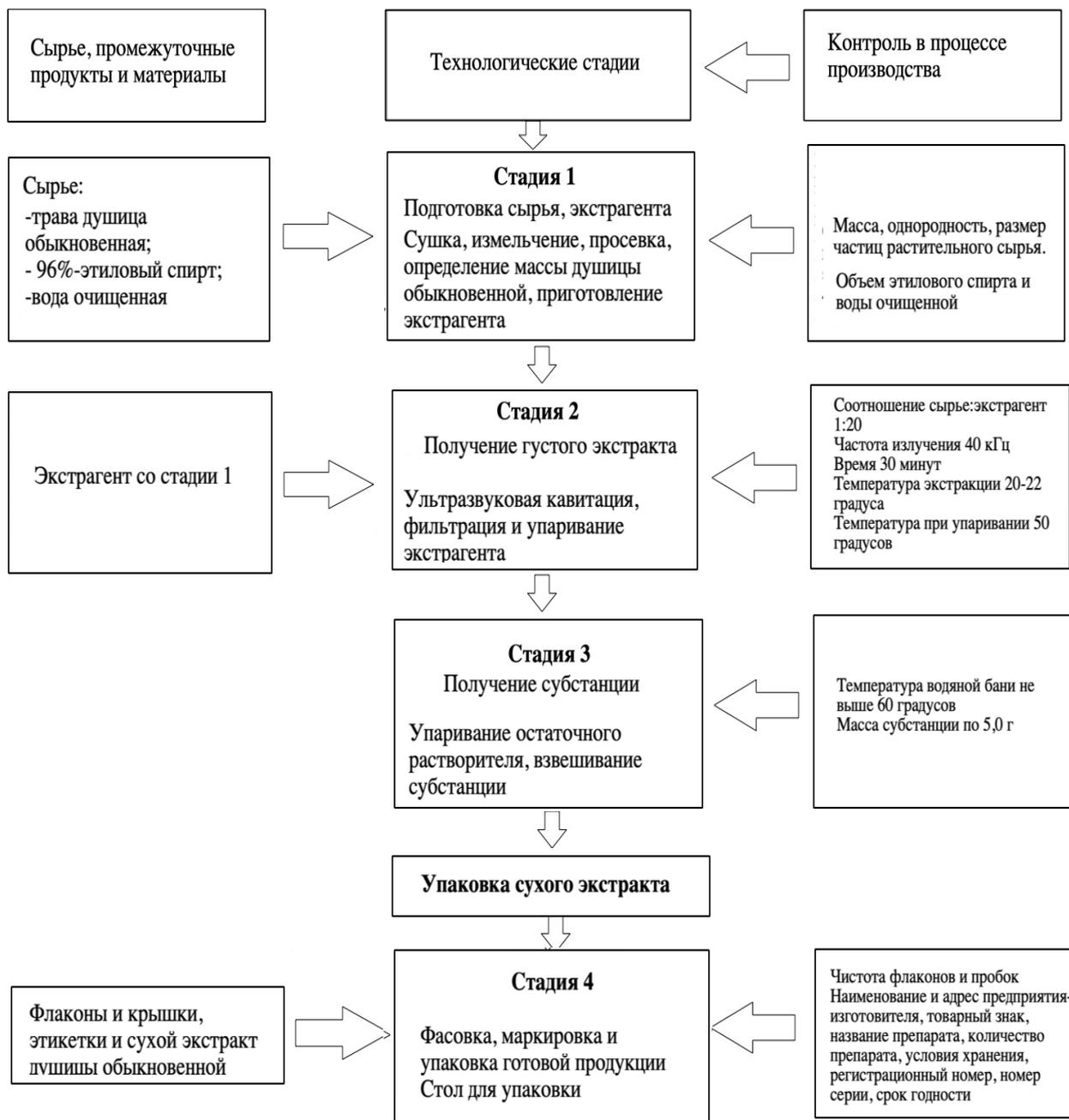


Рисунок 25 - Технологическая схема получения субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой»

5.4 Стандартизация сухого экстракта душицы обыкновенной и определение его стабильности

Следующие параметры сухого экстракта душицы обыкновенной, полученного в условиях ультразвуковой кавитации определены: микробиологические и физико-химические. По разделам «Экстракты» и 2.8 «Методы Фармакогнозии» ГФ РК были изучены критерии качества сухого экстракта *Origanum vulgare* L. Согласно приказу Министра здравоохранения Республики Казахстан от 19 ноября 2009 года № 754 «Об утверждении Правил составления, согласования и экспертизы нормативно-технического документа по контролю за качеством и безопасностью лекарственных средств» и в соответствии с требованиями ГФ РК разработан проект НД. В разработанный НД РК включены такие разделы как описание, идентификация, спецификации качества; микробиологическая чистота, количественное определение, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы (таблица 13).

Таблица 13 - Спецификация качества экстракта сухого душицы обыкновенной

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
1	2	3
Описание	Порошок темно-зеленого цвета с характерным запахом душицы обыкновенной.	ГФ РК I, т 1. Общая статья. «Экстракты».
Идентификация - терпеноиды - фенольные соединения	Появляется красно-фиолетовое окрашивание Появляется ярко-желтое окрашивание	ТСХ, ГФ РК I, т. 1, 2.2.27
Потеря в массе при высушивании	Не более 5,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.2.32 Ф ЕАЭС 2.1.2.31
Тяжелые металлы	Не более 0,01 %	ГФ РК, т. 1, 2.4.8, метод С Ф ЕАЭС 2.1.4.21
Микробиологическая чистота	Субстанция должна соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 4 В В 1.0 г субстанции допускается наличие общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов: не более 10^4 бактерий и не более 10^2 грибов В 1.0 г субстанции допускается наличие не более 10^2 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий В 1.0 г экстракта не допускается наличие бактерий <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> В 10.0 г субстанции не допускается	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и т. 2, 2.6.13 Ф ЕАЭС 2.3.1.4

	наличие <i>Salmonella</i>	
Количественное определение - флавоноиды в пересчете на рутин - сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на розмариновую	Не менее 3,0% Не менее 15.0%	Абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях ГФ РК I, т. 1, 2.2.25
Упаковка	50 г помещают в широкогорловые банки из ПВХ для лекарственных средств с завинчивающейся крышкой. На флакон наклеивают самоклеющуюся этикетку на русском и казахском языках указывают название предприятия изготовителя, страну производителя, его товарный знак и адрес, название субстанции, массу нетто, условие хранения, дату изготовления и срок хранения	В соответствии с НД
Маркировка	См. утвержденный макет упаковки.	В соответствии с НД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90 ГОСТ 17768-90	ГОСТ 17768-90
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше (20±5) °С	В соответствии с НД
Срок хранения	18 месяцев	В соответствии с НД
Основное фармакологическое действие	Антимикробное и противокариесное средство растительного происхождения	

5.5 Исследование стабильности экстракта сухого душицы обыкновенной и установление сроков хранения

Для изучения стабильности субстанции проведены долгосрочные испытания, температура (20±5) °С, относительная влажность 60±5%, данные условия испытаний в большей мере соответствуют условиям хранения, которые предполагаем. Данные по спецификации качества описаны в таблице 14 - 17.

Таблица 14 – Сведения об исследуемых сериях

Наименование субстанции	Сроки заготовки	Номер партии	Количество, кг
Экстракт сухой травы душицы обыкновенной	Май 2020	01УЭ0520	0,5
Экстракт сухой травы душицы обыкновенной	Май 2020	02УЭ0520	0,5
Экстракт сухой травы душицы обыкновенной	Май 2020	03УЭ0520	0,5

В течение 18 месяцев хранилась субстанция в первичной упаковке при температуре (20±5) °С, количественные и качественные характеристики в пределах регламентируемых норм, состав не изменился.

Таким образом согласно результатам успешно проведенных исследований, срок хранения субстанции установлен - 18 месяцев при температуре (20±5) °С и относительной влажности 60±5%. Исследования продолжаются.

Таблица 16 - Изучение стабильности сухого экстракта душицы обыкновенной, полученного в результате ультразвуковой кавитации, серия 2

Условия испытания: температура: $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, относительная влажность: $(60 \pm 5)\%$ Дата начала испытания: 09.2021 г Дата окончания испытания: 09.2023 г								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Сыпучий порошок зеленого цвета с приятным запахом	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация - полифенольные соединения	При добавлении хлорида алюминия появляется желтое окрашивание	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Количественное определение: - <i>розмариновая кислота</i>	- не менее 1%	0,56	0,56	0,59	0,58	0,57	0,57	0,57
Потеря в массе при высушивании	Не более 5,0 %	3,3%	3,8%	3,7%	3,5%	3,6%	3,5%	3,4%
Тяжелые металлы	Не более 0,01%	0,006%	0,006%	0,005%	0,005%	0,007%	0,008%	0,008%
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий – не более 10^5 , общее число грибов – не более 10^2 . Отсутствие <i>Escherichia Coli</i> , в 1 г.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст

Таблица 17 - Изучение стабильности сухого экстракта душицы обыкновенной, полученного в результате ультразвуковой кавитации, серия 3

Условия испытания: температура: $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, относительная влажность: $(60 \pm 5)\%$ Дата начала испытания: 09.2021 г Дата окончания испытания: 09.2023 г								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Сыпучий порошок зеленого цвета с приятным запахом	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация - полифенольные соединения	При добавлении хлорида алюминия появляется желтое окрашивание	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Количественное определение: - <i>розмариновая кислота</i>	- не менее 1%	0,65	0,58	0,59	0,58	0,58	0,57	0,59
Потеря в массе при высушивании	Не более 5,0 %	4.0%	4,8%	4,7%	4,6%	4,7%	4,1%	4,0%
Тяжелые металлы	Не более 0,01%	0,004%	0,005%	0,004%	0,005%	0,005%	0,006%	0.006%
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий – не более 10^5 , общее число грибов – не более 10^2 . Отсутствие <i>Escherichia Coli</i> , в 1 г.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст

Выводы по пятому разделу

При исследовании эфирных масел дикорастущей душицы обыкновенной из различных мест произрастания выявлено, что качественный состав и количественное содержание меняются, но основной компонент остается неизменным. Мажорным компонентом эфирного масла душицы обыкновенной, произрастающей в различных областях Казахстана, является монотерпеновый фенол – карвакрол, а основными компонентами культивируемой душицы являются сесквитерпеноиды. Для наработки и получения биологически активного эфирного масла рекомендовано использовать казахстанское дикорастущее сырье.

Для разработки технологии получения экстракта душицы обыкновенной подобраны экстрагент, метод и условия экстракции.

Из сырья душицы обыкновенной были получены экстракты различными методами: настаиванием, ультразвуковой кавитацией и мироволновой экстракцией. Сухой экстракт получали по технологии: ультразвуковая экстракция (получение), очистка, сгущение и выпаривание. Для последующей наработки и получения субстанции субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» необходимо использовать ультразвуковой метод и для экстракции использовать 70% этиловый спирт для получения максимального выхода биологически активных веществ. При изучении технологических характеристик надземной части орегано установлено, что оптимальная степень измельчения сырья составляет 1-5 мм, соотношение сырье – экстрагент – 1:20.

По результатам исследования химического состава травы растений рода душицы, представленных в литературе, установлено наличие кверцетина, гликозидов апигенина, лютеолина и преобладающей среди них

Готовый продукт представлял собой густую жидкость, зеленовато-коричневого цвета со специфическим запахом. Присутствие флавоноидов в полученном экстракте идентифицировали путем проведения качественных реакций и хроматографического анализа, характерных для данной группы биологически активных веществ (рутина, кверцетин, розмариновой, урсоловой кислоты и т.д.)

Разработан новый способ получения сухого экстракта душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), который за счет применения ультразвуковой экстракции, характеризуется высокой производительностью технологического процесса, низким расходом экстрагента, исключением трудоемких и времязатратных процедур, что делает его доступным, рациональным и экономичным.

Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» (ЛР №156 от 24 марта 2021), в соответствии с которых производится наработка опытных партий для дальнейших фармацевтических и фармакологических работ.

6 РАЗРАБОТКА СОСТАВА И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ЭФИРНОГО МАСЛА И СУХОГО ЭКСТРАКТА *ORIGANUM VULGARE L.*

6.1 Обоснование состава и разработка технологии стоматологического геля

В связи с тем, что эфирное масло душицы обыкновенной обладает выраженным антибактериальным действием в отношении образования биопленки *Streptococcus mutans* и является перспективной субстанцией для создания оригинальных лекарственных средств для лечения и профилактики кариеса, нами осуществлен выбор гелеобразователей и проведена предварительная оценка полученных образцов стоматологического геля на основе эфирного масла душицы обыкновенной.

Фармацевтической субстанцией в составе геля является этанольный экстракт душицы обыкновенной, обладающий высокой противовоспалительной активностью и за счет комбинированного действия биологически активных соединений.

Для разработки оптимального состава геля разработаны несколько гелевых композиций, которые исследованы на биологическую активность и фармацевтическую доступность.

Выбор основ для приготовления геля представляет собой важную проблемы, так как необходимо было использовать как липофильные, так и гидрофильные основы, которые не обладают аллергическими, раздражающими свойствами и хорошо высвобождают лекарственное вещество из гелевой формы.

Предварительно нами были проведены работы по подбору гелеобразователя, по определению физико-химических и структурно-механических показателей используемых основ. При этом определено: температура плавления, кислотное, перекисное, йодное числа. Выбранные основы по всем изучаемым показателям отвечали требованиям ГФ РК и Ф ЕАЭС, предъявляемым к основам для приготовления гелей. Нами изготовлены 15 образцов (моделей) стоматологического геля с карбопол и 5 моделей с Na-КМЦ.

Первоначальный экспериментальный этап заключался в подборе состава стоматологического геля, использовании основных и вспомогательных ингредиентов, технологии приготовления, изучения полученных свойств и обоснование перспективы использования состава в разработке технологии нового комбинированного стоматологического геля с несколькими биологическими свойствами. А именно – введение в состав геля эфирного масла душицы обыкновенной для обеспечения противокариесного, антимикробного действия и сухого экстракта для снятия воспалительного процесса в ротовой полости.

В качестве гелеобразователей были взяты карбопол (США) и Na-КМЦ (Россия). Необходимое количество воды очищенной смешивали с рассчитанным количеством натрия гидроксида концентрированного и перемешивали в течение 30 минут при 20 ± 5 об/мин. Регламентируемое

количество карбомера заливали водой очищенной, перемешивали и оставляли для набухания. Для достижения однородной дисперсии гелеобразователи вводили в воду постепенно при тщательном перемешивании во избежание формирования комков, с краткосрочным предварительным набуханием, без интенсивного встряхивания колбы с дисперсией во избежание попадания в нее воздуха. Учитывая общепринятую технологию и перспективу использования разрабатываемого нами продукта, возникала необходимость дальнейшей нейтрализации геля. Наиболее распространенным способом является нейтрализация веществами основного характера. В качестве нейтрализующего агента нами был использован водный раствор гидроксида натрия, который вводили небольшими порциями до достижения нейтральной рН среды геля. По истечении не менее 30 минут набухший карбопол нейтрализовали раствором натрия гидроксида и гомогенизировали в течение 60 мин при 20 ± 5 об/мин. Рассчитанное количество экстракта душицы обыкновенной заливали регламентированным количеством глицерина, затем добавляли по каплям рассчитанное количество эфирного масла орегано и гомогенизировали для получения концентрата в течение 30 мин при 20 ± 5 об/мин. Затем вводили концентрат в основу геля, гомогенизировали по истечении времени 30 минут, смешивали с эмульгатором твин-80 и продолжали гомогенизацию согласно регламенту. 15 образцов модельных гели получали путем диспергирования в воде с помощью лопастной мешалки.

Органолептические свойства геля осматривали визуально. Отмечались следующие признаки: однородность, прозрачность. Определение рН проводили потенциометрически в соответствии с требованиями ГФ РК с использованием рН-метра.

В ходе оценки полученных модельных гелей были определены органолептические свойства (внешний вид, цвет, запах, однородность), а также определена рН. Критерием однородности служило отсутствие отдельных видимых частиц компонентов, посторонних примесей, а также признаков коагуляции, агрегации частиц, расслоения фаз. Все исследуемые образцы полученных нами основ характеризовались высокой прозрачностью, однородностью и бесцветностью.

На первом этапе исследований при изготовлении экспериментальных образцов геля было установлено, что карбопол-940 не может быть использован в качестве основы разрабатываемой композиции, так как в присутствии экстракта наблюдалась коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя (образцы 6-15) (таблица 18).

Таблица 18 - Свойства моделей стоматологического геля на основе карбопола

№ №	Состав стоматологического геля	pH	Стабильность	Свойства
1	2	3	4	5
1	Карбопол – 1г, твин 80 – 1 г, глицерин - 10 г, 10% раствор гидроксида натрия, эфирное масло душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.5	стабильный	Однородный, прозрачный, низкая антимикробная активность
2	Карбопол – 1г, твин 80 – 3 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, эфирное масло душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.6	стабильный	Однородный, прозрачный, низкая антимикробная активность
3	Карбопол – 1,5 г, твин 80 – 5 г, глицерин -10 г, 10% раствор гидроксида натрия, эфирное масло душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.6	стабильный	Однородный, прозрачный, низкая антимикробная активность
4	Карбопол – 1г, твин 80 – 2 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, эфирное масло душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.6	стабильный	Однородный, прозрачный, средне-выраженная антимикробная активность
5	Карбопол – 1г, твин 80 – 0.9 мг, глицерин -10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, эфирное масло душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.5	стабильный	Однородный, прозрачный, средней-выраженная антимикробная активность
6	Карбопол – 3 г, твин 80 – 2 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.5	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
7	Карбопол – 2 г, твин 80 – 1г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.6	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
8	Карбопол – 3 г, твин 80 – 1 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.8	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
9	Карбопол – 2г, твин 80 – 2 мг, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100	4.5	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
10	Карбопол – 3г, твин 80 – 0.9 г, глицерин -	4.7	стабильный	коагуляция и

	10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 5 г, вода очищенная – до 100			выпадение осадка гелеобразователя
11	Карбопол – 1г, твин 80 – 1 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт и эфирное масло душицы обыкновенной по 3 г, вода очищенная – до 100	4.7	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
12	Карбопол – 1г, твин 80 – 2 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт и эфирное масло душицы обыкновенной по 5 г, вода очищенная – до 100	4.8	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
13	Карбопол – 3 г, твин 80 –2 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 3 г, вода очищенная – до 100	4.5	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
14	Карбопол – 1г, твин 80 – 2 г, глицерин - 10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 4 г, вода очищенная – до 100	4.5	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя
15	Карбопол – 1г, твин 80 – 0.9 мг, глицерин -10 мг, 10% раствор гидроксида натрия, экстракт душицы обыкновенной 5 мг, вода очищенная – до 100	4.6	стабильный	коагуляция и выпадение осадка гелеобразователя

При изучении высвобождаемости действующего вещества карвакрола методом прямой диффузии в агар наиболее эффективными явились гидрофильные основы. Поэтому нами в процессе исследовательской работы составлены композиционные модели мазей на гидрофильных основах.

Для объективной оценки подготовлены еще 5 композиций геля с различным содержанием действующего вещества на основе Na-КМЦ. Концентрация БАВ в геле варьировала от 0,5 до 5 % (таблица 19).

Гель содержит эфирное масло и этанольный экстракт душицы обыкновенной» (*Origanum vulgare* L.), натрий карбоксиметилцеллюлозу, глицерин, подсластитель и воду.

Состав геля № 1

Экстракт душицы обыкновенной 0,6 г, Na КМЦ – 2,2 г, глицерин – 2 мл, 10%-ный раствор NaOH – 2 мл, эфирное масло душицы обыкновенной 1,2 мл, вода очищенная до 100 мл.

Состав геля № 2

Экстракт душицы обыкновенной 0,6 г, NaКМЦ – 2,2 г, глицерин – 2 мл, эфирное масло душицы обыкновенной 1,2 мл, ТВИН-80 – 1,2 мл., вода очищенная до 100 мл.

Состав геля № 3

Экстракт душицы обыкновенной 0,6 грамм, NaКМЦ – 2,2 грамма, глицерин – 2 мл, эфирное масло душицы обыкновенной 1,2 мл, подсластитель – 0,3 г, вода очищенная до 100 мл.

Состав геля № 4

NaКМЦ – 2,2 грамма, глицерин – 2 мл, подсластитель – 0,1 г, эфирное масло душицы обыкновенной 1,2 мл, вода очищенная до 100 мл.

Состав геля № 5

Экстракт душицы обыкновенной 0,6 грамм, NaКМЦ – 2,2 грамма, глицерин – 2 мл, подсластитель – 0,3 г, вода очищенная до 100 мл.

Исследование качеств различных составов стоматологического геля, изготовленного по образцам 1-5, выявило, что оптимальным с точки зрения консистенции, удобства применения, эффективности лечения является образец №3.

Замечено, что образцы №4, №5 обладают недостаточными клеящими, обволакивающими способностями и органолептическими качествами.

Образец №2 обладает слишком жидкой консистенцией, затрудняющей равномерное нанесение геля.

Образец №1 оказывает жгучий эффект на слизистую полости рта.

Поэтому в качестве оптимального состава геля стоматологического был принят образец №3.

Таблица 19 - Состав образцов противокариесного геля (10 г)

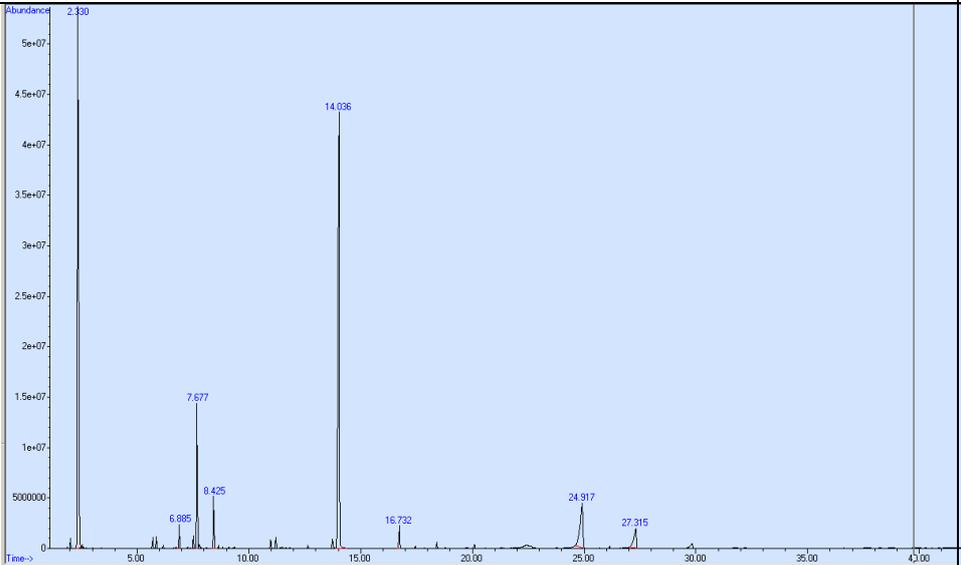
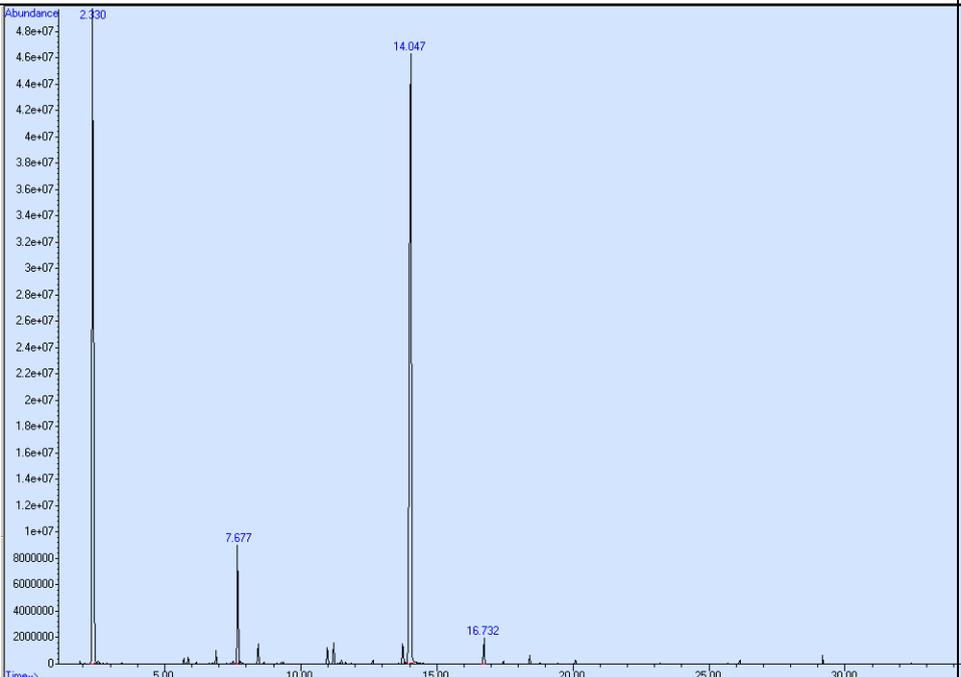
Название ингредиентов	Назначение	Образцы				
		ПКГ1	ПКГ2	ПКГ3	ПКГ4	ПКГ5
Экстракт душицы обыкновенной (г)	Действующее вещество	0,6	0,6	0,6	-	0,6
Эфирное масло душицы обыкновенной (мл)	Действующее вещество	1,2	1,2	1,2	1,2	-
NaКМЦ (г)	Гелевая основа	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Глицерин (мл)	Пластификатор	2	2	2	2	2
NaOH гидроксид 10%	Регулятор кислотности	0,2	-	-	-	-
Твин 80 (мл)	Стабилизатор	-	1,2	-	-	-
Подсластитель (г)	Корригент	-	-	0,3	0,1	0,3
вода очищенная (мл)	Растворитель до	100	100	100	100	100

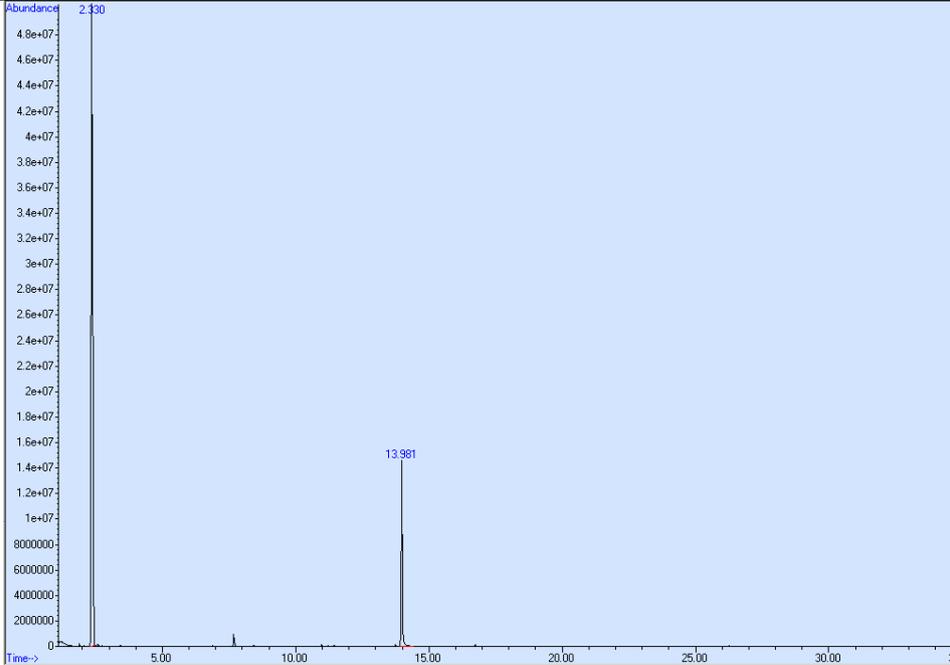
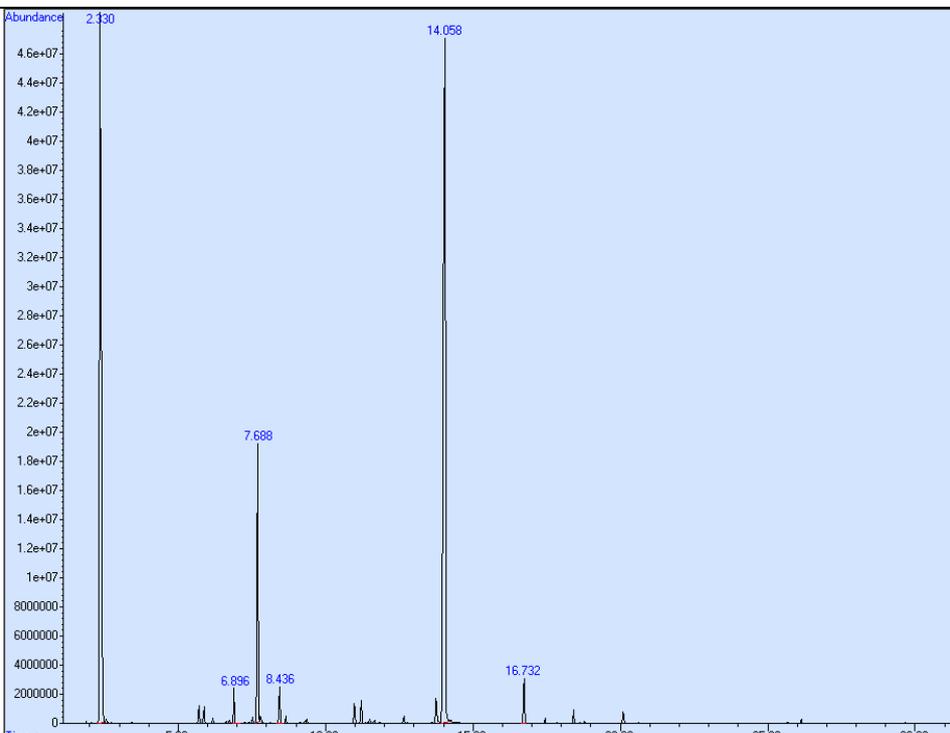
Методом ГХ-МС определено количественное содержание карвакрола во всех образцах геля (таблица 20). Исследование образцов проводилось методом газовой хроматографии. Использовался газовый хроматограф Agilent 7890А с масс-селективным детектором Agilent 5975С.

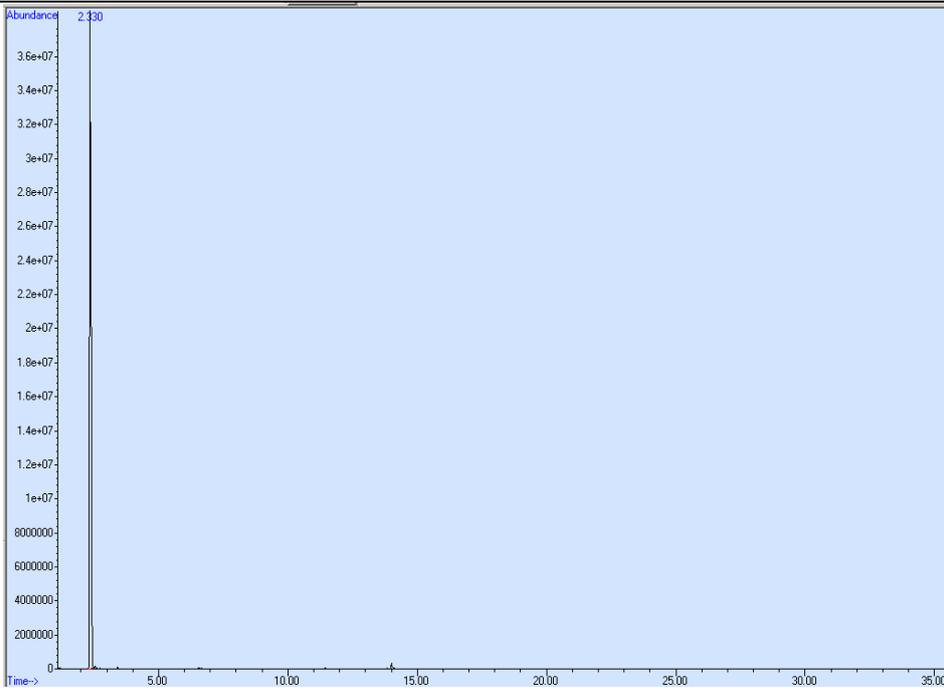
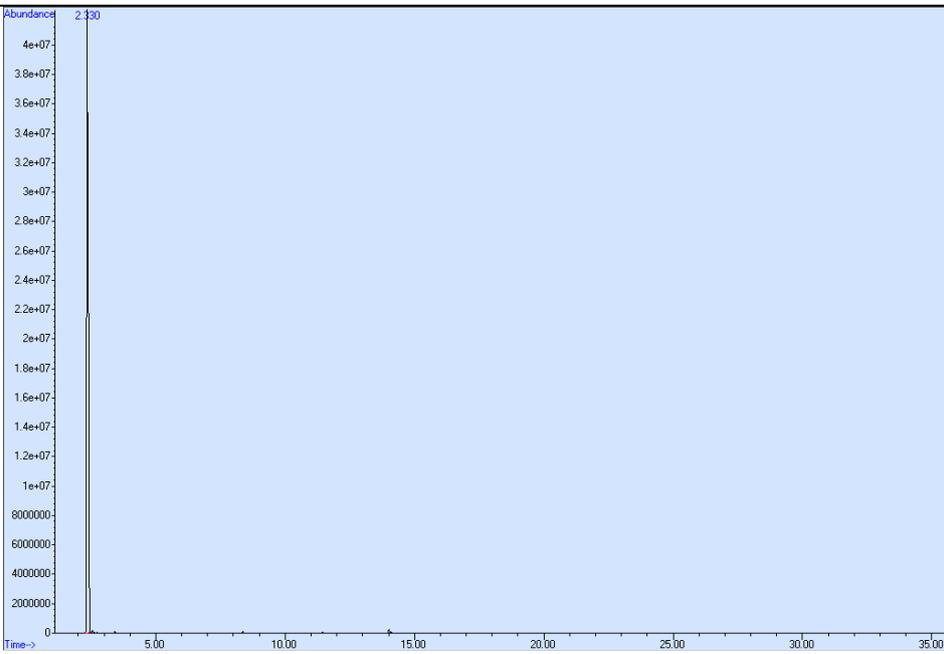
Анализ проводили при следующих условиях: тип колонки - Rxi-5ms, длина колонки 30 м; диаметр колонки - 0,25 мм; толщина адсорбента колонки – 0,25 μм; температура испарителя – 250 °С; температура термостата – 60-300 °С; газ – носитель – гелий; расход газа – носителя – 1мл/мин; давление газа в колонке 54,51 кПа; объем пробы – 0,2 мкл.

Обработка результатов производилось автоматически при помощи программы GS – MSDData Analysis. Время удержания карвакрола – 14 мин.

Таблица 20 - Количественное содержание карвакрола в образцах геля

№ №	Назва ние образц а	ГХ-МС образца	Содержа ние карвакро ла
1	ЭМ ДО (эфир ное масло)	 <p>Chromatogram for sample 1 (ЭМ ДО) showing abundance versus time. The y-axis represents abundance from 0 to 5e+07. The x-axis represents time from 0 to 40.00 minutes. The base peak is at 14.036 minutes. Other significant peaks are labeled at 2.330, 6.885, 7.677, 8.425, 16.732, 24.917, and 27.315 minutes.</p>	14.058
2	ПГ1	 <p>Chromatogram for sample 2 (ПГ1) showing abundance versus time. The y-axis represents abundance from 0 to 4.8e+07. The x-axis represents time from 0 to 40.00 minutes. The base peak is at 14.047 minutes. Other significant peaks are labeled at 2.330, 7.677, and 16.732 minutes.</p>	14.0

3	ПГ2	 <p>Abundance</p> <p>2.130</p> <p>13.981</p> <p>Time--></p>	Отсутствует
4	ПГ3	 <p>Abundance</p> <p>2.130</p> <p>6.896</p> <p>7.688</p> <p>8.436</p> <p>14.058</p> <p>16.732</p> <p>Time--></p>	14.047

5	ПГ4		отсутствует
6	ПГ5		отсутствует

Таким образом, в качестве оптимального состава геля стоматологического принят образец №3. В результате проведенных комплексных фитохимических и технологических исследований обоснован и предложен состав комбинированного стоматологического геля: сухой экстракт душицы обыкновенной, полученный в условиях ультразвуковой кавитации – 0,6; эфирное масло душицы обыкновенной – 1,2; Na-КМЦ – 2,2; глицерин – 2,2; подсластитель натуральный – 0,3; Вода очищенная – до 100.

Образец на заявленной основе проявил себя как наиболее стабильный при хранении и проявил самые высокие показатели качества, в том числе сохраняющиеся во времени гомогенность и однородность. Изучены технологические параметры качества разработанного комбинированного

стоматологического геля и предложены нормируемые показатели качества (внешний вид, цвет, запах, однородность, водородный показатель (рН), количественное определение действующего вещества) [206].

6.2 Технология получения стоматологического геля на основе эфирного масла и сухого экстракта душицы обыкновенной

Местное нанесение гелей на патологические участки дает большое преимущество в более быстром высвобождении лекарственного средства непосредственно к месту действия, независимо от водорастворимости препарата, по сравнению с кремами и мазями. Гели обычно считаются лучшим способом лечения зубов любого типа, что в значительной степени связано с пористым составом зубов. Большинство разновидностей стоматологического геля имеют химический состав, позволяющий эффективно проникать в зубы, укреплять или отбеливать их, или притуплять боль.

Производственные помещения и технологическое оборудование подготавливается в первую очередь для приготовления мягкой лекарственной формы - геля.

Ежедневно в производственном помещении проводили уборку с применением 1 % раствора дихлора. Бактерицидные облучатели марки ОБН - 150 использовали для обеззараживания воздуха. Руки обрабатывали раствором АХД - 2000. Оборудование для приготовления гелей, после каждого использования промывали лигнином, 0,5 % раствором моющего средства, проточной водой ополаскивали, так же водой очищенной и 70 % этиловым спиртом протирали. В закрытых емкостях тару доставляли на стадию фасовки.

Со склада сырья в упаковочной таре используемое сырье передавали в производство.

Технологический процесс получения геля заключается в подготовке исходных веществ, приготовления гелевой основы, введения лекарственных веществ в мазевую основу, гомогенизации геля, фасовке в тубы по 10 г, маркировки и упаковки их во вторичную тару. Технологическая и аппаратурная схемы получения геля представлена на рисунке 26.

Технологическая схема производства геля состоит из следующих стадий:

Стадия 1. Подготовка исходных веществ.

Для приготовления антимикробного стоматологического геля выделяли эфирное масло из душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), которое проводилось методом гидродистилляции с использованием аппарата Клевенджера из воздушно-сухой массы растительного сырья. Гидродистилляцию проводили в течение 3 часов, в качестве растворителя для сбора эфирного масла использован гексан. Качественный состав и количественное содержание компонентов эфирного масла душицы обыкновенной определяли методом ГХ-МС. Выход ЭМ – 0.5%.

Проведена этанольная экстракция душицы обыкновенной. 50 грамм сухого измельченного сырья душицы обыкновенной заливали 1 литром 96% этилового спирта (1:20) и настаивали сутки. Провели фильтрацию, на ротационном испарителе ИЛ-1ЛТ концентрировали экстракт, перегнали

этанольно – водную смесь. Сконцентрированный экстракт выпаривали в фарфоровой выпарной чаше, поставленной на водяную баню при температуре 80° градусов до получения густого экстракта. Получили густой экстракт темно-зеленого цвета с приятным запахом и выходом 6,21%.

Стадия 2. Подготовка гелевой основы.

Для получения 100, 0 грамм геля в химический стакан вместимостью 500 мл помещали рассчитанный объем Na-КМЦ и заливали холодной очищенной водой, перемешивали и оставляли для набухания 15-20 минут. Затем раствор перемешивали при включённой мешалке 50-100 об/мин до полного растворения.

Стадия 3. Приготовление геля

Затем в отдельной емкости в отмеренном количестве глицерина растворяли экстракт душицы обыкновенной, затем добавляли по каплям рассчитанное количество эфирного масла душицы обыкновенной и остальные вещества. Приготовленный раствор добавляют к основе геля при включенной мешалке 100 об/мин и перемешивали до получения гомогенной массы.

Гель диспергировали 2 часа, после проверяли на однородность и степень измельчения. Гель выгружали и направляли на следующую стадию фасовки после достижения однородности и размера частиц менее 100 мкм.

Стадия 4. Фасовка, маркировка, упаковка.

Из емкости предварительно производили отбор средней пробы для проведения контроля геля по следующим показателям: описание, идентификация, рН, однородность, количественное определение действующих веществ и микробиологический анализ. При получении положительных результатов анализа гель загружали в дозатор (объемный дозатор и расфасовывали в баночки по 10 г.

Готовые тубы маркировали, упаковали в пачки и в транспортные коробки, затем наклеивали этикетки.

Взвешивание на весах 1 с помощью автокара 2 подача мажевой массы в камеру 3. Расплавление и подача в реактор 4. Стадия уплотнения подачи в реактор 5 с паровой рубашкой и после расплавления смешивание массы. Фильтрация готовой основы через друк-фильтр 6 в реактор 7,8. Гомогенизация готового геля в гомогенизаторе 9 и передача на фасовку 10.

Таким образом, впервые для стоматологического геля нами разработана технология получения (рисунок 26).

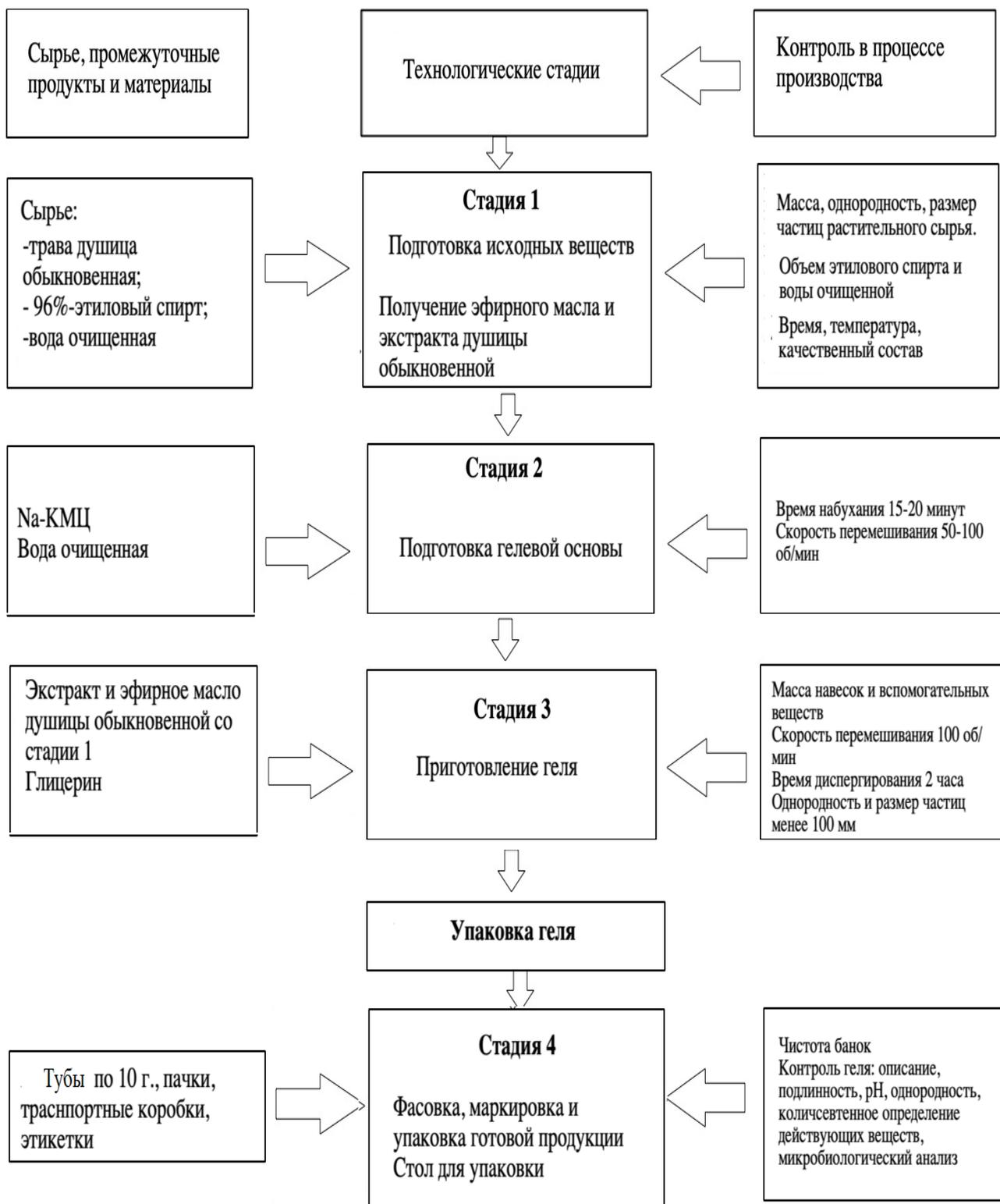


Рисунок 26 - Технологическая схема производства геля в заводских условиях

6.3 Реологические свойства стоматологического геля

Реологические свойства геля проводили определение с использованием ротационного вискозиметра Visco Star plus L. в диапазоне скорости деформирования от малых к большим (0,5-200 об/мин) и от больших к малым при температурах 20 °С, 25 °С, 30 °С.

Была исследована зависимость напряжения сдвига (τ) и эффективной вязкости ($\ln\eta_{\text{эфф.}}$) от градиента скорости сдвигового течения (D) при различных температурах для образца геля с эфирным маслом душицы обыкновенной. Строили графики зависимости средних значений касательного напряжения сдвига и динамической вязкости от градиента приложенной скорости, по которым судили о типе течения системы и наличии тиксотропных свойств (рисунки 25, 26).

При температуре 25 °С нисходящая кривая располагается от восходящей кривой слева, что указывает на то, что разрушение структуры при уменьшении нагрузок несколько преобладает над её восстановлением (рисунок 27). Ширина петли указывает на низкую степень разрушения структуры. Дальнейшее повышение температуры приводит к довольно быстрому разрушению структуры и уменьшению площади петли гистерезиса. Очевидно, это связано с тем, что температурное воздействие способствует разрушению структуры.

О степени разрушения структуры геля судили по величине механической стабильности (МС). Рассчитанное значение МС для геля, равное 1,08, указывает на преобладание в системе коагуляционных связей и возможную стабильность при длительном хранении.

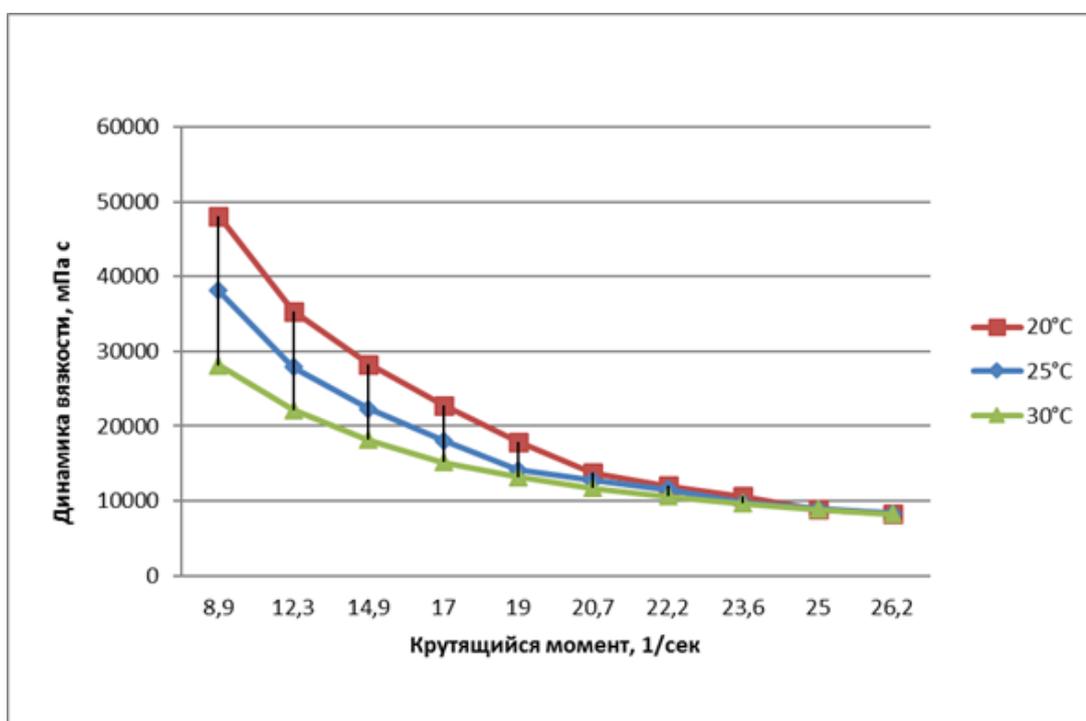


Рисунок 27 - Реограмма кинетики деформации образца геля на основе NaКМЦ

На рисунке 28 можно увидеть, что структура геля разрушается и полностью восстанавливается (в этом случае система имеет наибольшую вязкость) при малых скоростях сдвига. При увеличении скорости сдвига разрушение структуры начинает преобладать над восстановлением, и вязкость уменьшается.

Известно, что структурообразование в дисперсных системах в значительной степени зависит от температуры. При повышении температуры от 20 до 30 °С вязкость мази/гели уменьшается от 8350 до 8210 мПа·с, что свидетельствует о большой чувствительности мази/гели к изменению температуры. Прямой и обратный процесс изменения градиента скорости мало изменяет значение вязкости, что говорит об отсутствии сильных внутренних системных перестроек и образовании новой фазы в диапазоне температур от 20 до 30°С. Однако наличие гистерезисной петли показывает, что в мази происходит заметное деформационное упорядочение.

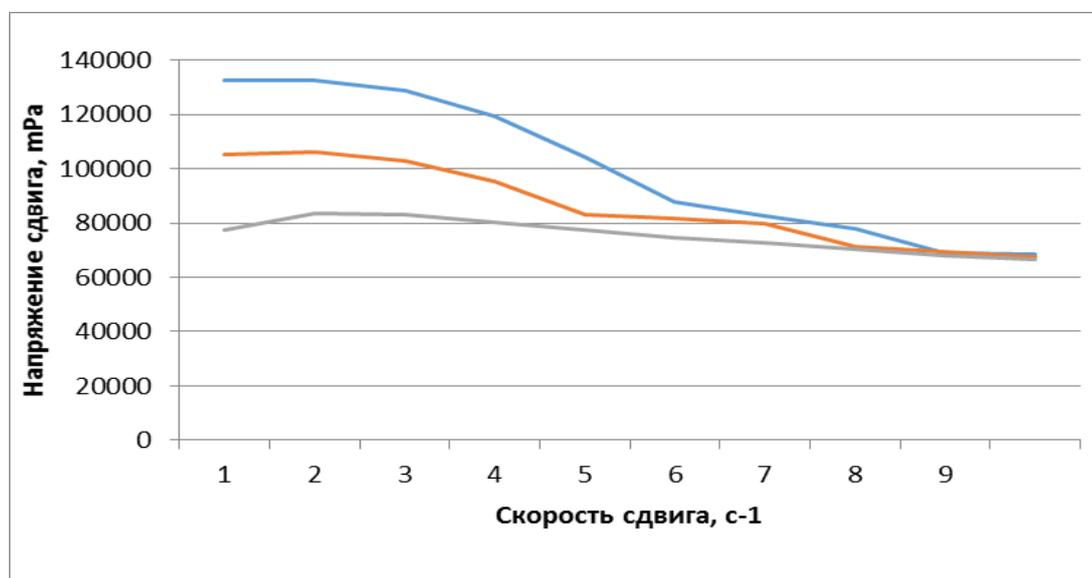


Рисунок 28 - Зависимость эффективной вязкости от градиента скорости сдвигового течения при различных температурах для образца геля

Известно, что структурообразование в дисперсных системах в значительной степени зависит от температуры. Прямой и обратный процесс изменения градиента скорости мало изменяет значение вязкости, что говорит об отсутствии сильных внутренних системных перестроек и образовании новой фазы в диапазоне температур от 25 до 30°С. Однако наличие гистерезисной петли показывает, что в геле происходит заметное деформационное упорядочение (Рис. 29).

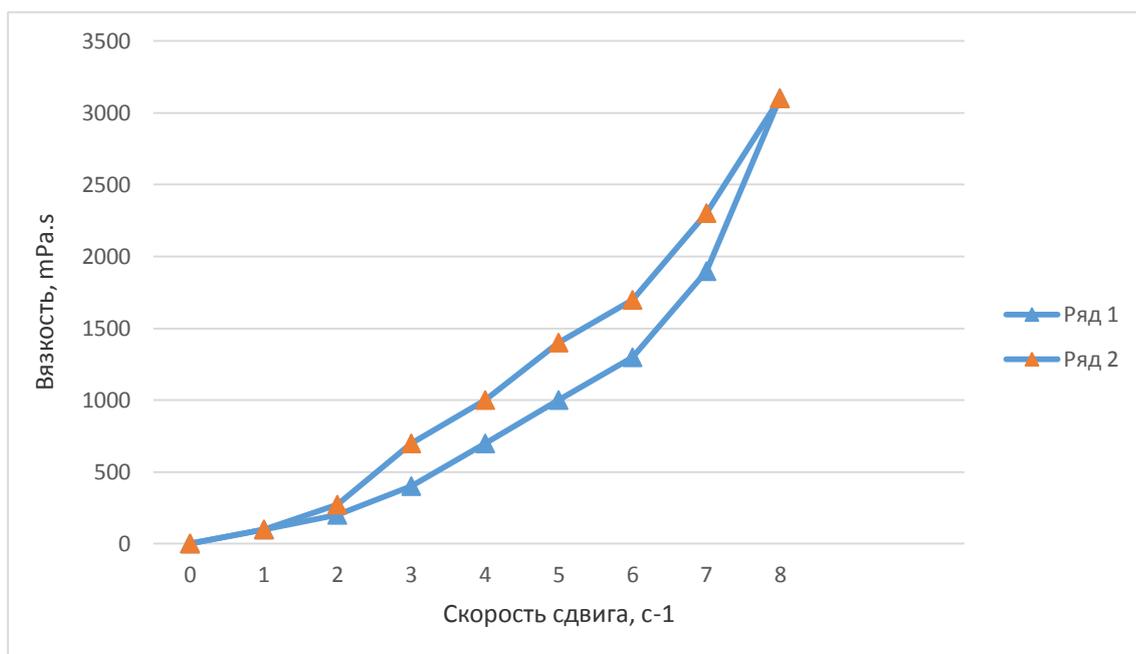


Рисунок 29 - Реограммы течения геля

Кинетика деформации геля в области изменения градиентов скорости свидетельствует о том, что необходимое для разрыва элементов структуры течение начинается не мгновенно, а лишь после некоторого приложения напряжения. Исследуемый гель имеет неньютоновский тип течения, его вязкость зависит от напряжения сдвига, реограмма течения – нелинейного характера. В период убывающего напряжения вязкость системы частично восстанавливается, что подтверждает наличие пластично-вязких и тиксотропных свойств эмульсии. Прежняя структура восстанавливается медленно, если убывает напряжение сдвига. На реограмме течения нисходящая вместе с восходящей кривой образуют «петлю гистерезиса», что подтверждает тиксотропность исследуемых гелей.

Таким образом, изучение реологических характеристик геля показало, что данная лекарственная форма обладает приемлемыми свойствами, способными обеспечить необходимые технологические и эксплуатационные свойства.

6.4 Высвобождение действующего вещества

Биофармацевтическое исследование стоматологического геля

Приготовление реагентов для изучения высвобождения действующего вещества из стоматологического геля

Приготовление раствора агара 2%

Точно взвешенное количество (2,00 г) агара бактериологического поместили в термостойкую коническую колбу объемом 250 мл, добавили 100 мл воды очищенной и нагревали, помешивая на кипящей водяной бане 10-15 мин до полного растворения. Затем к горячему раствору агара добавили 10 мл 0,1% раствор индикатора бромтимолового синего (раствор агара окрасился в

темно-зеленый цвет). Горячий агар сразу разлили равными объемами в 3 чашки Петри и поставили застывать в холодильник до образования студня.

Изучение высвобождения действующего вещества из геля методом «прямой диффузии в агар».

Изучение высвобождения действующего вещества из геля проводили методом «прямой диффузии в агар» в термостате в течении 6 часов. Готовый 2%-ный раствор агара, разливали в чашки Петри, остужали в течение часа, затем вырезали лунки диаметром 8,5 мм и помещали в них гель на основе эфирного масла и экстракта душицы обыкновенной с разным составом основ весом по 0,25 г. Исследования проводили в 3 параллелях при температуре $36,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Степень диффузии в агар оценивали визуально по изменению окраски зон в синий цвет. Результаты представлены на рисунках 30,31, 32.



Рисунок 30 - Изучение высвобождения действующего вещества из композиции ПКГ1

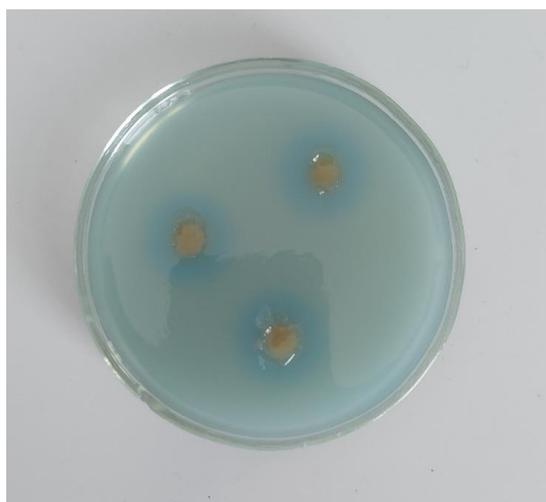


Рисунок 31 - Изучение высвобождения действующего вещества из композиции ПКГ2



Рисунок 32 - Изучение высвобождения действующего вещества из композиции ПКГ3

Опыты по кинетике высвобождения действующего вещества из гелевых композиции показали, что наилучшими биофармацевтическими параметрами обладает гидрофильная основа ПКГ3, скорость высвобождения действующего вещества из геля зависит от природы выбранного носителя, что наглядно представлено на рисунке 33. Характер соответствующих кинетических кривых изменяются линейно в течение двух часов от начала эксперимента, достигая первого максимума ПКГ3. ПКГ2 и ПКГ1 достигает плеча насыщения, а затем приобретает тенденцию к монотонному плавному росту.

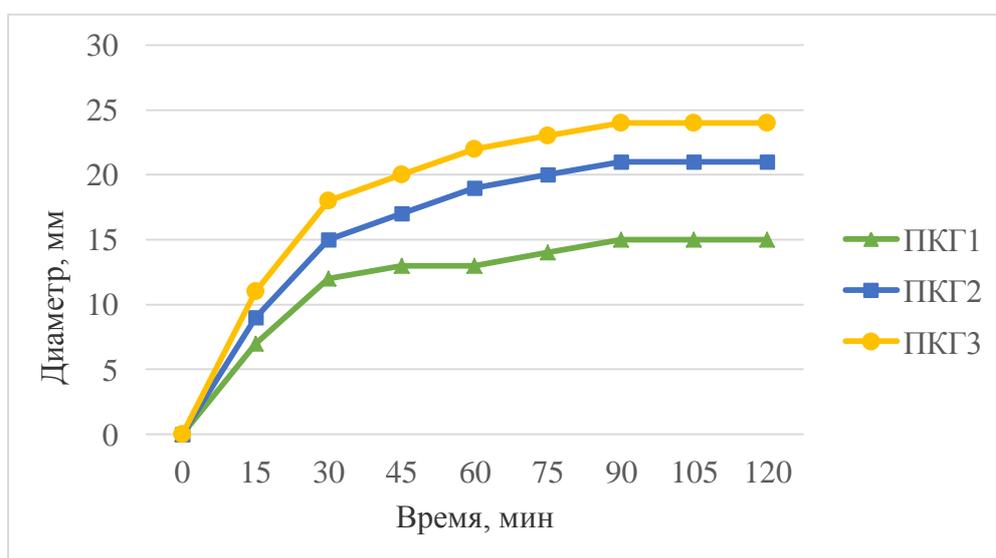


Рисунок 33 - Кинетика высвобождения действующего вещества из гелевых композиции методом диффузии в агар

Анализ данных, представленных на рисунке 4, свидетельствует о том, что композиция состава ПКГ3 высвобождает ЛС быстрее по сравнению с составами ПКГ1 и ПКГ2.

Таким образом, на интенсивность высвобождения влияют определенные факторы природы основы, методы приготовления лекарственной формы. По данным экспериментальных исследований модель ПКГЗ обладает наилучшими показателями по результатам кинетики высвобождения действующего вещества «методом прямой диффузии в агар».

6.5 Стандартизация стоматологического геля

Согласно требованиям ГФ РК нами были определены основные показатели качества геля: внешний вид, идентификация, однородность, размер частиц, рН, микробиологическая чистота и количественное содержание карвакрола в лекарственной форме (Приложение К).

Описание. Стоматологический гель антимиicrobialного и противокариесного действия на основе душицы обыкновенной (таблица 21).

Таблица 21 - Состав стоматологического геля ПКГЗ

№	Название ингредиентов	Количественное содержание
1.	Эфирное масло душицы обыкновенной (мл)	1,2
2.	Этанольный экстракт душицы обыкновенной (г)	0,6
3.	NaКМЦ (г)	2,2
4.	Подсластитель (г)	0,3
5.	Глицерин (мл)	2
6.	Вода очищенная до (мл)	4,6

Na-КМЦ использовали в качестве гелеобразующего агента. Согласно многочисленным исследованиям, лучшим вариантом гелевой основы является водная раствор Na-КМЦ с добавлением глицерина в качестве пластификатора, обладающая хорошими структурными и механическими свойствами, высвобождающей способностью и хорошей совместимостью с лекарствами как химического, так и растительного происхождения.

Гель темно зеленого цвета с сильным ароматным запахом, рН водного извлечения от 4,8 до 5,2. Содержание карвакрола не менее 0,5 % от массы геля.

Идентификация. Методом ГХ-МС. На хроматограмме испытуемого раствора, полученной при количественном определении карвакрола, время удерживания основного пика должно совпадать с временем удерживания пика карвакрола на хроматограмме раствора рабочего стандартного образца (РСО) карвакрола.

К 1 мл препарата прибавляют 3 капли 1 % раствора ванилина в кислоте серной, концентрированной образуется красновато-фиолетовое окрашивание.

Однородность. Гель на основе эфирного масла душицы обыкновенной должна быть однородной. Берут 4 пробы по 20-30 мг каждая и намазывают на предметное стекло по две пробы. Покрывают другим стеклом предметным, и прижимают плотно до образования пятен диаметром около 2 см и просматривают пятна невооруженным глазом на расстояние 30 см от глаза; в

трех из четырех пятен не должно обнаруживаться видимых частиц. Опытные образцы 5 серий однородны по указанной методике.

Размер частиц. Не более 100 мкм (в соответствии с ГФ РК с. 529). На основании 5 серии опытных образцов геля на основе эфирного масла душицы обыкновенной не было обнаружено частиц с размером более 100 мкм, что свидетельствует о соответствии выбранной технологии приготовления геля.

Определение рН водного раствора препарата проведено по методике ГФ РК с. 529 потенциометрическим методом. Анализ 5 серий опытных образцов разработанного геля показал, что значение рН водных растворов препарата находится в пределах 4,8 - 5,2. На основании результатов данного исследования нормировано значение рН водных растворов геля в пределах 4,5-7,0.

Микробиологическая чистота. Наличие не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) допускается в 1 грамме препарата. Наличие бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginos*, *Staphylococcus aureus* не допускается.

6.6 Определение критериев качества и установление сроков хранения геля

По требованиям ГФ РК, Ф ЕАЭС и Приказа МЗ РК №КР ДСМ-20 от 16 февраля 2021 года «Об утверждении правил разработки производителем лекарственных средств и согласования государственной экспертной организацией нормативного документа по качеству лекарственных средств при экспертизе лекарственных средств» были определены критерий качества и допустимые нормы показателей геля. Результаты исследования, показателей качества геля в процессе хранения представлены в таблице 22.

Таблица 22- Показатели качества геля в процессе ($P \geq 95 \%$, $f=2,78$, $n=5$)

Показатели	Сроки хранения		Результаты определения
	число суток	соответствующее число месяцев	
Описание	11,5	6	Гель темно-желтого цвета с сильным ароматным запахом.
	23	12	
	34,5	18	
	46	24	
Идентификация	11,5	6	Соответствует
	23	12	Соответствует
	34,5	18	Соответствует
	46	24	Соответствует
Однородность	11,5	6	Соответствует
	23	12	Соответствует
	34,5	18	Соответствует
	46	24	Соответствует
Размер частиц	11,5	6	Соответствует

Не более 100 мкм	23	12	Соответствует
	34,5	18	Соответствует
	46	24	
			4,8
Определение рН	11,5	6	4,8
	23	12	4,9
	34,5	18	5,1
	46	24	
Количественное определение карвакрола, в %	11,5	6	0,5
	23	12	0,5
	34,5	18	0,3
	46	24	0,3

В соответствии с требованиями Приказа Министерства здравоохранения РК №ҚР ДСМ-165/2020 от 28 октября 2020г «Об утверждении Правил проведения производителем лекарственного средства исследования стабильности, установления срока хранения и повторного контроля лекарственных средств» нами определены сроки хранения геля, в течение 12 мес методом долгосрочного испытания.

В геле не наблюдается в процессе хранения деструкции.

Если препарат стабилен, то сохраняются его основные свойства, влияющие на качество, терапевтический эффект, токсичность и другие показатели.

Гель расфасовали в тубы из металла и в картонные коробки. Лекарственную форму хранили при температуре 5 °С и при температуре 20±2 °С и подвергли анализу через 3, 6, 12, 18 месяцев после изготовления.

Разработана спецификация качества стоматологического геля для стандартизации, с учетом современных требований при разработке новых лекарственных средств. Результаты исследований представлены в таблице 23. Данные разработанной спецификации качества включены в проект НД на гель.

Таблица 23 – Спецификация качества геля

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
1	2	3
Описание	Мазь светло-желтого, со специфическим запахом	Ф ЕАЭС, т.1, ч.1, 2.1.6.0., ГФ РК, т.1, с.547
Однородность	Однородная масса	Ф ЕАЭС т.1, ч.1, 2.1.9.10 ГФ РК, т. 1, 2.2.1 приложение 1.
pH	4,5-6,0	Ф ЕАЭС т.1, ч.1, 2.1.2.3 ГФ РК, т. 1, 2.2.3
Идентификация: - терпены	При определении на хроматограмме количества карвакрола испытуемого раствора, полученной, время удерживания основного пика должно совпадать с временем удерживания пика карвакрола на хроматограмме раствора рабочего стандартного образца (РСО) карвакрола. К 1 мл препарата прибавляют 3 капли 1 % раствора ванилина в кислоте серной концентрированной образуется красновато-фиолетовое окрашивание.	ГХ-МС Качественная реакция
Микробиологическая чистота	В 1 грамме препарата допускается наличие не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов (суммарно). Не допускается наличие бактерий семейства Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginos, Staphylococcus aureus.	Ф ЕАЭС т.1, ч.1, 2.1.9.10 ГФ РК, т. 1, 2.6.12, 2.6.13
Количественное определение	Содержание C ₁₀ H ₁₄ O (карвакрола) в препарате должно быть не менее 5%.	ГФ РК, т. 1, 2.9.7 Ф ЕАЭС т.1, ч.1, 2.1.2.27
Упаковка	ГОСТ 17768-90. МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ. СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение. Алюминиевые тубы для медицинских мазей. Каждую банку вместе с листком - вкладышем на государственном и русском языках помещают в пачку из картона коробочного марки А или хром-эрзац по ГОСТ 7933-89 Е. Допускается текст инструкции по применению наносить на пачку. Групповая	В соответствии с НД

	упаковка и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90 Е	
Маркировка	На этикетке и пачке указывают название страны-производителя, название предприятия-изготовителя, его товарный знак, адрес, название препарата на латинском, государственном и русском языках, содержание действующего вещества в процентах, количество препарата в граммах, состав, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, условия отпуска, предупредительные надписи «беречь от детей», «не применять по истечении срока годности». На этикетке групповой тары дополнительно указывают количество упаковок.	В соответствии с НД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90 Е.	ГОСТ 17768-90Е
Хранение	«Хранить при температуре от 2 ⁰ С до 8 ⁰ С». В прохладном, защищенном от света месте	В соответствии с НД
Срок годности	1 год	В соответствии с НД
Основное фармакологическое действие	Противомикробное, противокариесное и противовоспалительное средство	

Образцы 5 серий геля заложили на хранение в естественных условиях. Исследование по изучению стабильности продолжают. Хранить гель во всех видах упаковки необходимо хранить в защищенном от света и прохладном месте.

6.7 Валидация технологической схемы выделения стандартного образца карвакрола

1 ЭТАП: Подготовка сырья, дистиллированной воды

Сушка травы душицы обыкновенной

Надземная часть (цветочные корзинки, листья, стебли) душицы обыкновенной (119,0 г) сушится в специальном сухом помещении с хорошей циркуляцией воздуха и отсутствием прямых солнечных лучей.

Измельчение душицы обыкновенной

Цветочные корзинки, стебли и листья измельчают на ножевой мельнице для тонкого измельчения до 8 мм.

Просевка сырья душицы обыкновенной

Сухое измельченное сырье душицы обыкновенной просеивают через сита с диаметром отверстий 8 мм.

Определение массы сырья

Сухое измельченное просеянное сырье душицы обыкновенной взвешивают на медицинских весах РП-150 по 6000,0 г. 6000,0 кг душицы обыкновенной помещают в мешок, сшитый из «бязи».

Подготовка дистиллированной воды

Готовят 3000,0 г дистиллированной воды.

2 ЭТАП: Подготовка адсорбента

Прокаливание силикагеля

Силикагель нагревается в электрической печи до 200-250°C. Активирование проводится без перемешивания за 5-6 часов.

3 ЭТАП: Выделение эфирного масла душицы обыкновенной

Гидродистилляция сырья душицы обыкновенной

Измельченное воздушно - сухое сырье (размером до 8 мм) надземной части душицы обыкновенной подвергают процессу гидродистилляции на аппарате Клевенджера. Выделенное эфирное масло представляло собой светло-оранжевую, приятно-пахнущую жидкость, $n_D=1.4887$. Эфирное масло смывают с аппарата Клевенджера петролейным эфиром.

Осушение эфирного масла душицы обыкновенной

Осушитель $MgSO_4$ (Na_2SO_4) добавляют к эфирному маслу с растворителем, тщательно перемешивают и оставляют до полного исчезновения воды.

Упаривание растворителя из эфирного масла

Эфирное масло с растворителем заливают в роторный испаритель. В роторном испарителе проводится процесс испарения растворителя при температуре 40°C. Выход 0.4 % на воздушно-сухое сырье. Основными компонентами эфирного масла душицы обыкновенной являются (%): карвакрол до 47%). Получено эфирное масло (1,07 г).

4 ЭТАП: Выделение карвакрола из эфирного масла душицы обыкновенной методом колоночной хроматографии

Разделение эфирного масла на фракции

Фракцию эфирного масла душицы обыкновенной хроматографировали на колонке с силикагелем в соотношении 1:20. Элюировали колонку гексаном. Контроль фракций осуществлялся методом ТСХ.

Упаривание фракции, содержащей карвакрол

Фракции эфирного масла заливают в роторный испаритель. В роторном испарителе проводится процесс испарения растворителя при температуре 40°C.

Упаривание фракции, не содержащей карвакрол

Фракции эфирного масла заливают в роторный испаритель. В роторном испарителе проводится процесс испарения растворителя при температуре 40°C.

Инфракрасный спектр поглощения карвакрола, полученный в диске с калия бромидом (3 мг препарата в 300 мг калия бромида), при 3083, 1644, 887 cm^{-1} , свидетельствующие о присутствии метиленовой группы ($-CH=CH_2$), а наличие другой трехзамещенной кратной связи подтверждается полосой поглощения при 797 cm^{-1} ($-CH=C$), полоса поглощения, характерная 3327 cm^{-1} говорит о наличии спиртовой группы (ОН).

Анализ ГХ-МС: время удержания карвакрола – 22,7 мин (рисунок 34).

При добавлении к карвакролу капли раствора ванилина в кислоте серной, раствор окрашивается в фиолетовый цвет (терпеноиды).

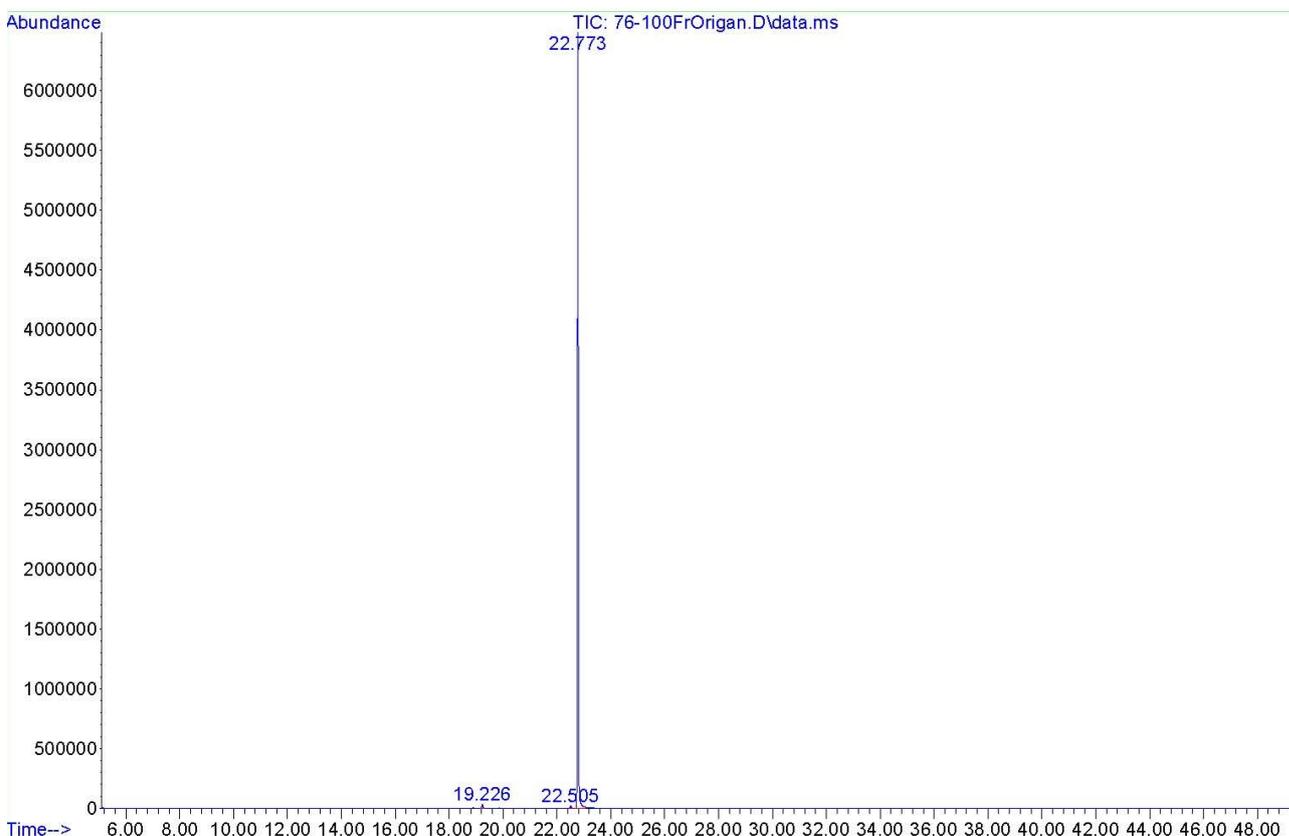


Рисунок 34– ГХ-МС стандартного образца карвакрола

5 ЭТАП: Стадии упаковки, маркировки, отгрузки

Фасовка во флаконы.

По 100 мг во флаконы типа ФО-10-НС-3 по ТУ 64-2-10-87, укупоренные пробками из резиновой смеси марок И-51, 52-599/1 или ИР-119 по ТУ 38.006108-90 и обжатые колпачками алюминиевыми типа К-2-14 по ОСТ 64-009-86 или во флаконы импортные.

На флакон наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86. Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с требованиями ГОСТ 17768-90 Е.

Маркировка На этикетке указывают страну-производитель, наименование предприятия-изготовителя, его товарный знак и адрес, название образца на латинском, государственном и русском языках, массу образца, условия хранения, номер серии, срок годности.

Маркировка групповой и транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96 (рисунок 35).

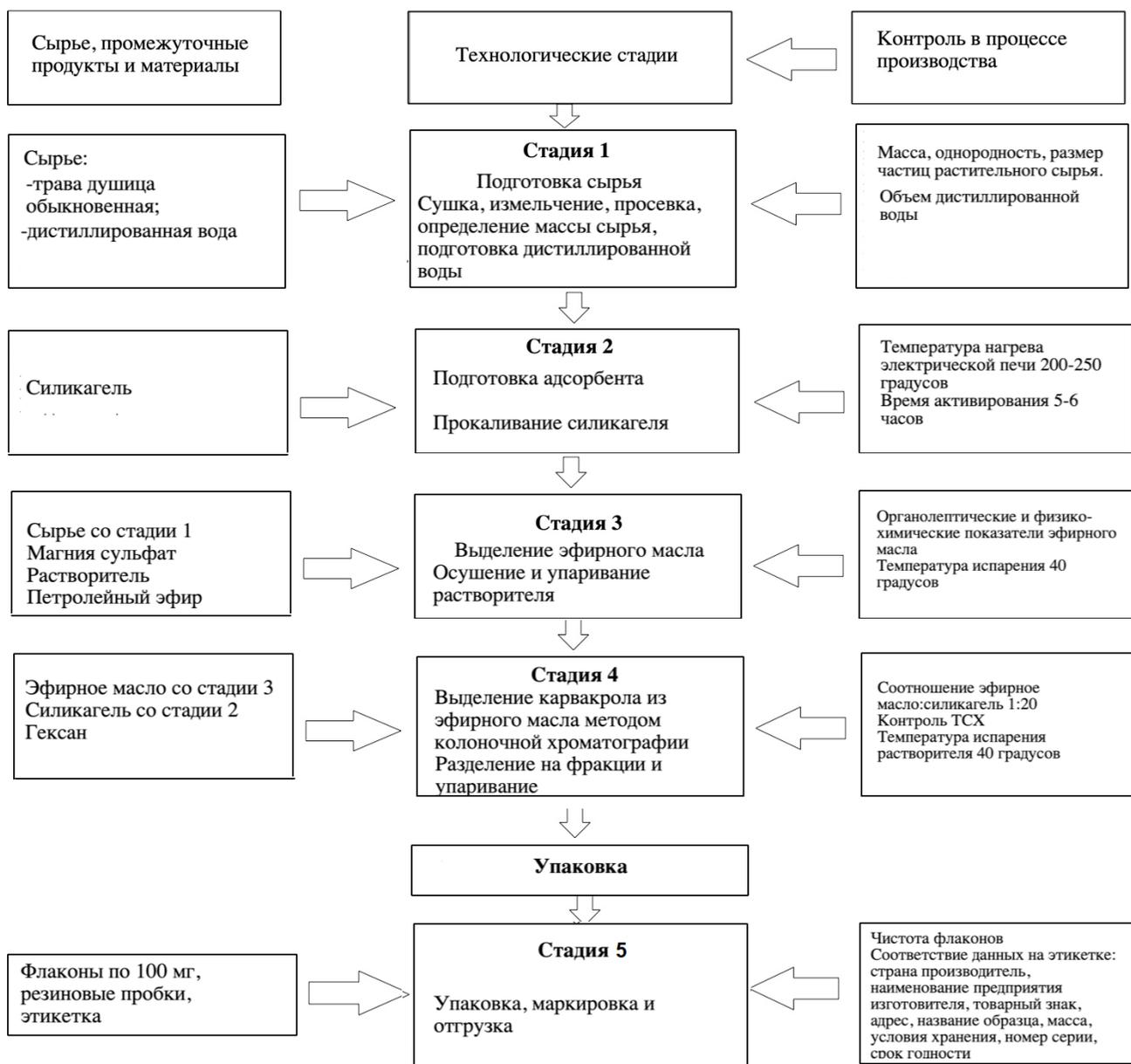


Рисунок 35 - Технологическая схема получения образца

Таблица 24 - Параметры качества стандартного образца карвакрола

Наименование показателей	Требования СП	Результаты		
		010920	020920	030920
Описание	Бесцветная жидкость	Бесцветная жидкость	Бесцветная жидкость	Бесцветная жидкость
Идентификация	ИК спектр	Соответствует	Соответствует	Соответствует
	ГХ-МС	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Растворимость	растворим в спирте этиловом 96 %, легко растворим в этилацетате, хлороформе	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Температура плавления	-	-	-	-
Посторонние примеси	Не более 2.0 %	1.91 %	1.81 %	1.93 %
Количественное определение	Не менее 97,0%	97,71	97,77	97,58
Вода	Не более 0,5 %	0,36	0,40	0,47
Остаточные растворители	Не более 0,5 %	0,02	0,02	0,02
Упаковка	Должна соответствовать	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Маркировка	Должна соответствовать	Соответствует	Соответствует	Соответствует

В производстве валидационной серии не было отклонений от производственного регламента.

Таким образом, подтверждено, что технологический процесс производства карвакрола СО стабилен и приводит к получению образца требуемого качества (таблица 24 - 27).

Таблица 25 - Изучение стабильности эфирного масла душицы обыкновенной, серия 1

Условия испытания: температура: $(21 \pm 2)^\circ\text{C}$, относительная влажность: $(60 \pm 5)\%$ Дата начала испытания: 09.2021 г Дата окончания испытания: 09.2023 г								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Подвижная жидкость желтого цвета с резким запахом	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация - карвакрол	При добавлении ванилина, в серной кислоте появляется красно-фиолетовое окрашивание	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Количественное определение: - карвакрол	- не менее 60%	65,7	65,0	66,3	65,7	66,3	66,7	66,8
Тяжелые металлы	Не более 0,01%	0,004%	0,0035%	0,004%	0,005%	0,005%	0,006%	0,005%
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий – не более 10^5 , общее число грибов – не более 10^2 . Отсутствие <i>Escherichia Coli</i> , в 1 г.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст

Таблица 26 - Изучение стабильности эфирного масла душицы обыкновенной, серия 2

Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Подвижная жидкость желтого цвета с резким запахом	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация - карвакрол	При добавлении ванилина, в серной кислоте появляется красно-фиолетовое окрашивание	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Количественное определение: - карвакрол	- не менее 60%	66,1	66,8	67,1	67,2	66,8	66,9	66,8
Тяжелые металлы	Не более 0,01%	0,002%	0,005%	0,004%	0,006%	0,005%	0,004%	0,005%
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий – не более 10^5 , общее число грибов – не более 10^2 . Отсутствие <i>Escherichia Coli</i> , в 1 г.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст

Таблица 27 - Изучение стабильности эфирного масла душицы обыкновенной, серия 3

Условия испытания: температура: $(21 \pm 2)^\circ\text{C}$, относительная влажность: $(60 \pm 5)\%$ Дата начала испытания: 09.2021 г Дата окончания испытания: 09.2023 г								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Подвижная жидкость желтого цвета с резким запахом	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация - карвакрол	При добавлении ванилина, в серной кислоте появляется красно-фиолетовое окрашивание	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Количественное определение: - карвакрол	- не менее 60%	64,7	65,1	65,4	66,8	66,1	65,0	65,0
Тяжелые металлы	Не более 0,01%	0,003%	0,003%	0,005%	0,003%	0,002%	0,003%	0,003%
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий – не более 10^5 , общее число грибов – не более 10^2 . Отсутствие <i>Escherichia Coli</i> , в 1 г.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст

7 ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ И ПРОТИВОКАРИЕСНОЙ АКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ

7.1 Скрининг эфирного масла душицы обыкновенной на противокариесную активность

Исходный материал *Streptococcus mutans* (штамм UA159) в обезжиренном молоке размораживали и 10 мкл его суспензии инокулировали во флаконы с заквасочной культурой, содержащие 990 мкл бульона Тодда Хьюитта (ТН). Затем флаконы с заквасочной культурой инкубировали в анаэробных условиях (95% N₂ + 5% CO₂) при 37 °С в течение 18 часов.

Для проверки чистоты полную петлю исходной суспензии *S. mutans* инокулировали в чашки с колумбийским агаром с 7% овечьей кровью. Затем, планшеты инкубировали в анаэробных условиях (95% N₂ + 5% CO₂) при 37 °С в течение 48 ч. Через 18 ч корректировку оптической плотности (OD) заквасочных культур проводили в разведении 1:5 в 96-луночном микропланшете с использованием спектрофотометра для считывания микропланшетов Dynex MRX™ при 630 нм. ТН-бульон без и с 1% сахарозы разливали в 24-луночные плоскодонные планшеты для культивирования тканей из полистирола (конечный объем жидкости на лунку составлял 1 мл). Исходную концентрацию эфирного масла душицы обыкновенной (100 мг / мл) готовили в чистом диметилсульфоксиде (ДМСО). Эфирное масло душицы обыкновенной добавляли в чашки в конечных концентрациях 2, 4, 6, 8 и 10 мг / мл, а ДМСО добавляли в чашки в конечных концентрациях 2, 4, 6, 8 и 10%. В лунки планшета засеивали заквасочную культуру *S. mutans* в конечном разведении 1: 100, и планшеты инкубировали в анаэробных условиях (95% N₂ + 5% CO₂) при 37 °С в течение 24 часов. Лунки планшета промывали дистиллированной водой для удаления непрочно связанных бактериальных клеток, а затем биопленку на дне лунок фиксировали 95% этанолом. Биопленку окрашивали 0,01% -ным раствором кристаллического фиолетового, а затем связанный краситель экстрагировали 33% -ным раствором уксусной кислоты (рисунок 36). После этого оптическую плотность образцов измеряли с использованием спектрофотометра для чтения микропланшетов Dynex MRX™ при 595 нм.

Данные были проанализированы с помощью программы Statistical Package for Social Science (SPSS) (версия 23.0) с использованием однофакторного ANOVA-теста наименьшей значимой разницы (LSD) Post-Hoc для сравнения средних значений. Значение p менее 0,05 считалось статистически значимым (рисунок 37).

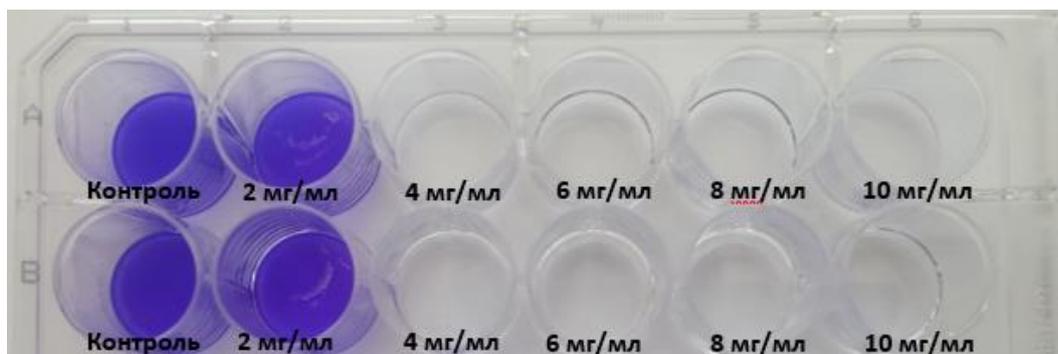
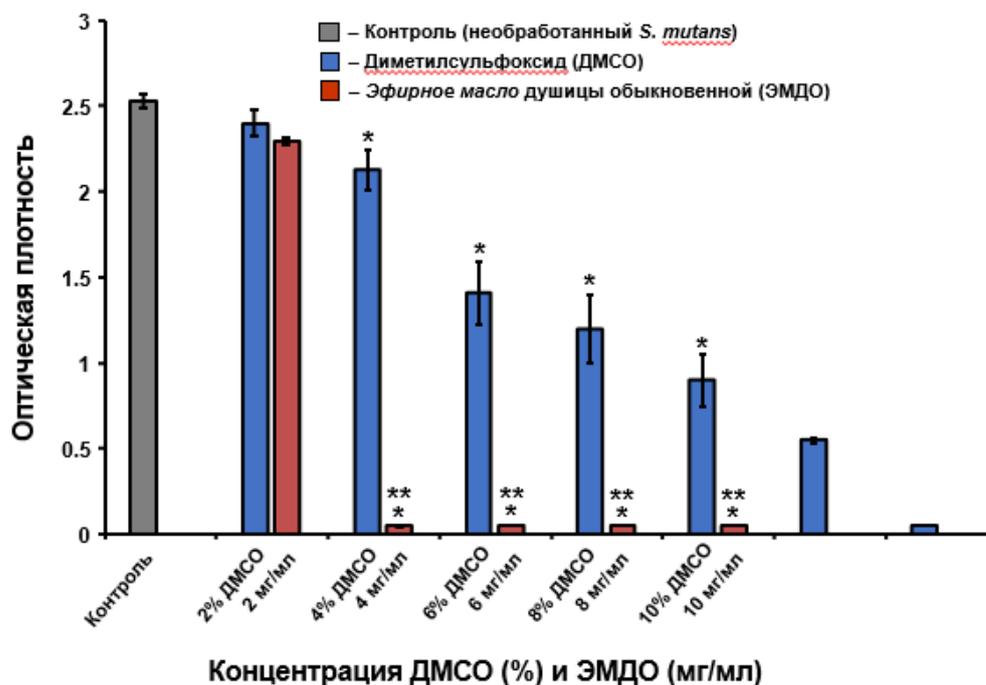


Рисунок 36 - Биопленка *S. mutans*, окрашенная 0,01% - ным раствором фиолетового кристалла через 24 часа инкубации с эфирным маслом *Origanum vulgare*



* $p < 0,05$ по сравнению с необработанными бактериями + 1% сахарозы; ** $p < 0,05$ по сравнению к ДМСО. Значения ($n = 2-26$) являются средними значениями \pm стандартная ошибка из одного эксперимента.

Однофакторный дисперсионный анализ, апостериорный тест LSD (программа SPSS, версия 23.0)

Рисунок 37 - Плотность биопленки (биомасса) *Streptococcus mutans* после 24 ч инкубации в эфирном масле *Origanum vulgare* и ДМСО

Таким образом, изучено влияние эфирного масла душицы обыкновенной на образование биопленок *Streptococcus mutans* [207].

Так как *Streptococcus mutans* считается основным кариесогенным микроорганизмом, вызывающим кариес [208]. Концентрация эфирного масла *Origanum vulgare* в 4, 6, 8 и 10 мг / мл снижает образование биопленки *S. mutans*

на 98% по сравнению с необработанными бактериями ($p < 0,05$) в бульоне ТН с 1% сахарозы. Это доказывает эффективность эфирного масла душицы обыкновенной против кариеса.

7.2 Скрининг водных и водно-этанольных экстрактов на антимикробную активность

В современных условиях происходит формирование штаммов микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью и их активное распространение в микробной популяции, что делает актуальным поиск новых средств с антимикробной и антигрибковой активностью. Наряду с синтетическими лекарственными средствами, все большее значение приобретают препараты растительного происхождения. Содержащиеся в них биологически активные вещества сходны по структуре и действию с естественными компонентами организма человека, что обуславливает значительное снижение количества побочных эффектов от применения этих препаратов [209].

Бактерии, устойчивые к антибиотикам, угрожают их эффективности и ограничивают возможности лечения даже при распространенных инфекциях [210]. Снижение исследований и разработок новых антибактериальных средств, которые способны подавлять устойчивые к антибиотикам болезнетворные микроорганизмы, такие как *S. aureus*, усугубляет возникающую резистентность к антибиотикам [211]. Поэтому большое внимание следует уделять натуральным продуктам, которые могут быть использованы в качестве высокоэффективных лекарств для лечения заболеваний человека, и против патогенов с незначительными побочными эффектами.

Многие растения, такие как гвоздика, орегано, тимьян, корица и тмин, ранее применялись для лечения инфекционных заболеваний, поскольку экспериментально доказано, что они обладают антимикробной и антигрибковой активностью против патогенных грибов и бактерий [212-221].

Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L., семейства *Lamiaceae*) обладает значительными антибактериальными свойствами, которые обусловлены, в первую очередь, содержанием в ней карвакрола и тимола [222].

Также она обладает антибактериальными, противогрибковыми, противопаразитарными, противомикробными и антиоксидантными свойствами [223-226].

Существенную антимикробную активность *Origanum vulgare* проявляет в отношении широкого спектра бактерий, включая виды, устойчивые к антибиотикам. Они могут повлиять на грамположительные и грамотрицательные бактерии, дрожжевые грибки [227].

Фенольные соединения и флавоноиды, такие как лютеолин, гистидулин, апигенин, акацетин, диосметин, гербацетин, кверцетин, нарингин и другие, обнаружены в экстрактах душицы обыкновенной. Другие соединения, например, розмариновая кислота, также присутствует в эфирном масле душицы обыкновенной [228].

Изучение антимикробной и антигрибковой активности полученных экстрактов душицы обыкновенной проводилось диско-диффузионным методом [229].

Изучение антимикробной активности вышеуказанных образцов проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli*, и к дрожжевому грибку *Candida albicans* диско-диффузионным методом. Препараты сравнения – гентамицин для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. Albicans* (Приложение Л).

Для проведения исследования готовили взвесь, содержащую стандартное количество жизнеспособных клеток бактерий, которую засеивали газон на поверхность питательной среды в чашки Петри. На стерильные диски из фильтровальной бумаги наносили 0,01 мл экстракта. Диски с препаратами накладывали на посев на расстоянии 2,5 см от центра чашки по кругу (на одну чашку 4 диска). Посевы инкубировали 24 ч при 36 °С. После инкубации, на фоне равномерного бактериального газона вокруг дисков образовывались зоны полного и частичного подавления роста бактерий. Учет результатов осуществляли путем измерения диаметра зон подавления роста.

Антимикробная активность образцов оценивалась по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметр зон задержки роста меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали, как отсутствие антибактериальной активности, 10-15 см – слабая активность, 15-20 см – умеренно выраженная активность, свыше 20 см – выраженная. Каждый образец испытывался в трех параллельных опытах.

Результаты исследования антимикробной активности образцов приведены в таблице 28.

Таблица 28 - Антимикробная активность исследуемых образцов экстрактов в отношении бактерий (зона торможения измеряется в мм)

№	Наименование образца	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Bacillus Subtilis</i>		<i>Escherichia Coli</i>		<i>Candida albicans</i>	
		\bar{x}	гентамицин	\bar{x}	гентамицин	\bar{x}	гентамицин	\bar{x}	нистатин
1	Водный экстракт душицы обыкновенной	13,3±0,6	22	12,6±0,6	20	11±1,1	22	9,3±1,8	20
2	Водный экстракт душицы обыкновенной*	13,0±2,3	21	11,0±1,7	23	10,3±0,6	20	7,6±1,3	20

3	30% спиртовый экстракт душицы обыкновенной *	17,0±1,1	20	15,5±1,7	19	9,6±1,8	20	8,6±0,6	22
4	50% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	23±2,3	22	22,6±1,3	24	11,6±1,7	22	8,3±0,6	18
5	70% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	14,3±0,6	23	13,0±1,6	20	10,0±1,1	20	7,6±0,6	21
6	90% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	24±2,2	20	25,3±0,6	19	11,3±2,7	25	9±2,7	22
7	30% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	24,3±1,7	22	26,3±0,6	22	10,0±1,1	25	7,3±1,8	24
8	50% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	15,3±0,6	22	15,6±1,3	22	9,6±1,8	22	9,3±2,4	20
9	70% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	15±1,2	20	16±1,1	26	11,6±0,6	24	5,3±0,7	21
10	90% спиртовый экстракт душицы обыкновенной	22,3±0,6	20	21±1,9	22	10,3±1,8	23	9,3±0,6	22

Примечание: * - экстракт, полученный под действием ультразвука

Из данных таблицы 1 следует, что 30%, 90% - водные и 50%, 90% - ультразвуковые экстракты душицы обыкновенной показали выраженную антибактериальную активность против тестируемых штаммов микроорганизмов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*. Для остальных экстрактов отмечена меньшая выраженность антибактериальных свойств.

Умеренно выраженную активность по отношению к грамположительным микроорганизмам *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* показали 30% ультразвуковой и 50%, 70% экстракты, полученные методом кипячения. Также слабую антибактериальную активность против этих штаммов показали водные экстракты, полученные двумя методами и 70% спиртовой экстракт, полученный ультразвуковым методом.

Кроме того, была выявлена слабая антимикробная активность экстрактов душицы обыкновенной в отношении грамотрицательных микроорганизмов *Escherichia coli*.

Полученные экстракты душицы обыкновенной не проявили активность в отношении штаммов грибов рода *Candida*.

7.3 Исследование на антимикробную активность образцов стоматологического геля

В этой разработке этанольный экстракт и эфирное масло душицы использовались в качестве активного вещества и консерванта. Основными компонентами эфирных масел являются терпеноидные соединения - терпены $C_{10}H_{16}$ и их кислородсодержащие производные [230]. Они также являются консервантами, эфирное масло душицы обладает консервирующими свойствами, карвакрол - основной компонент этого масла также имеет аналогичные свойства, согласно данным [231] и экстракт *Origanum vulgare* L. обладает консервирующими свойствами [232]. То есть экстракт и эфирное масло душицы являются двумя такими агентами, которые зарекомендовали себя не только как противомикробные и противогрибковые, но и как натуральные пищевые консерванты.

Из данных таблицы 29 следует, что образцы геля ПКГ1 и ПКГ3 проявляют выраженную активность в отношении штаммов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, дрожжевого гриба *Candida albicans* и умеренно выраженную активность по отношению к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Приложение М).

Выявлена слабая антимикробная активность образца ПКГ2 в отношении штаммов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и дрожжевого гриба *Candida albicans*. В образцах противокариесного геля ПКГ3 и ПКГ4 наблюдается слабая антимикробная активность в отношении грибка *Candida albicans*.

Изучение качеств различных составов стоматологического геля, изготовленного по образцам 1-5, показало, что образец ПКГ3 является

оптимальным с точки зрения консистенции, простоты использования и эффективности лечения.

Замечено, что образцы ПКГ4, ПКГ5 обладают недостаточными адгезионными, обволакивающими способностями и органолептическими качествами. Образцы ПКГ1, ПКГ2 обладают слишком жидкой консистенцией, что затрудняет равномерное нанесение геля. Поэтому образец ПКГ3 был принят как оптимальный состав стоматологического геля.

Данные, полученные на испытанных образцах гелей, показали, что при добавлении только одного из действующих веществ или изменении состава путем добавления стабилизатора антимикробная активность слабеет, что свидетельствует об ингибирующих свойствах этих соединений и необходимости тестирования образца, даже если изменен только один ингредиент.

Таблица 29 - Противомикробная активность исследованных 5 образцов антикариесного геля (зона ингибирования измеряется в мм)

Bacteria	ПКГ1	ПКГ2	ПКГ3	ПКГ4	ПКГ5	Benzyl penicillin	Nystatin
<i>Staphylococcus aureus</i>	27±1	10±1	25±1	–	9±1	20±1	–
<i>Bacillus subtilis</i>	30±1	–	25±1	–	9±1	25±1	–
<i>Escherichia coli</i>	20±1	–	16±1	–	–	20±1	–
<i>Ps. aeruginosa</i>	16±1	–	16±1	–	–	12±1	–
<i>Candida albicans</i>	35±1	15±1	25±1	10±1	10±1	–	22±1

7.4 Противовоспалительная активность стоматологического геля

На фармацевтическом рынке представлен широкий ассортимент препаратов, применяемых при местном лечении воспалительных заболеваний пародонта. Однако, комбинированных препаратов очень мало, кроме того, наличие побочных эффектов, аллергических реакций и явление устойчивости к антибиотикам обуславливают важность поиска новых средств лечения. Предпосылкой к данному исследованию явилось наличие высокой антимикробной и противокариесной активностью эфирного масла *Origanum vulgare* L [233-238].

Исследования проводились на 48 белых крысах обоего пола массой 210-220 г, которые были распределены на 8 групп по 6 животных в каждой: 1-6 опытные группы - животные, получавшие стоматологический гель в дозе 25 мг/кг; 7 группа сравнения- животные, получавшие препарат сравнения диклофенак натрия, 8 группа контрольная – животные, получавшие растворитель.

В объеме 1 мл на 100 г массы тела крыс вводили 1% раствор уксусной кислоты внутривентрально для вызова острой экссудативной реакции (перитонит). По истечению 3 часов крыс забивали и вскрывали для сбора и оценки объема экссудата. Исследуемые объекты изучали в дозе 25 мг/кг при пероральном введении в виде крахмальной слизи. Препарат сравнения диклофенак натрия вводили животным внутривентрально однократно в его эффективной дозе 8 мг/кг (ЕД₅₀). Эквивалентное количество крахмальной слизи получали контрольные животные. За 1 час до введения 1% раствора уксусной кислоты однократно вводили исследуемые объекты. Противовоспалительную активность выражали в процентах уменьшения количества воспалительного экссудата в брюшной полости у опытных крыс по сравнению с контрольными. Результаты исследования противовоспалительной активности образцов исследуемого геля и диклофенака натрия приведены в таблице 30.

Таблица 30 – Противовоспалительная активность образцов

Наименование образцов	Доза, мг/кг	Количество экссудата, мл.	% к контролю	Противовоспалительная активность
Контроль	-	7,0± 0,6	100	-
Диклофенак натрия	8	4,4 ± 0,8*	37,1	62,9
Стоматологический гель	25	4,1 ± 0,5*	41,4	58,6

Примечание * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Полученные результаты статистически обрабатывали программой «Statistica 6.0». Результаты показаны в значении «среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения». Отличия между группами сравнивали Mann-Whitney U-test (непараметрическим критерием). При достигнутом уровне значимости $p < 0,05$ различия считались достоверными.

В результате проведенного эксперимента выявлено, что образец стоматологического геля в дозе 25 мг/кг обладают противовоспалительной активностью, что выразалось в достоверном уменьшении на 41,4%, соответственно количества воспалительного экссудата в брюшной полости у крыс по сравнению с контролем. Противовоспалительная активность стоматологического геля с эфирным маслом и этанольным экстрактом душицы обыкновенной сопоставима с препаратом сравнения диклофенаком натрия.

7.5 Изучение острой токсичности сухого экстракта орегано, полученного в условиях ультразвуковой кавитации

Исследования острой токсичности проводили на белых аутбредных мышах и крысах самцах и самках массой 25-38 г. и 140-230 г, соответственно. Все животные были разделены на четыре группы по пять голов в каждой. Животные прошли акклиматизацию в условиях комнаты для проведения испытаний в течение 14 суток. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе свободном доступе к воде и пище. Исследования были одобрены Комитетом по биоэтике НАО «Медицинский университет Караганды» протокол №6 от 29.10.2018 г. (Приложение Н).

Для изучения острой токсичности рассчитанную дозу необходимую для введения растворяли в воде объемом для мышей 0,2 мл, для крыс 0,5 мл и вводили экспериментальным животным внутрижелудочно с помощью специального зонда. Однократно животные получали физиологически допустимый объем препарата. Для исследования острой токсичности были выбраны дозы 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 2000 мг/кг, как рекомендованные к исследованию. Каждую дозу соединения вводили экспериментальным животным, разделенным по 4 группам (по 5 крыс и 5 мышей обоего пола) из расчёта на массу тела. Группа А получали экстракт дозировкой 500 мг/кг, группа В получали экстракт дозировкой 1000 мг/кг, группа С получали экстракт дозировкой 2000 мг/кг, группа D (контрольная) получали дистиллированную воду в объеме 1 мл. Животных взвешивали при формировании групп, перед введением исследуемого экстракта, а также на 1, 5, 10 и 14 сутки после введения экстракта. Перед и после введения вещества животные не получали пищу в течение 2-3 часов. Наблюдение за животными проводили в течение 14 суток. Дизайн исследования представлен в таблице 23(Приложение П).

Таблица 31 – Дизайн исследования острой токсичности экстракта душицы обыкновенной при внутрижелудочном введении на крысах и мышах

№ группы	Пол (М/Ф)	Кол-во животных	Исследуемое ЛС	Доза ЛС мг/кг
Мыши				
А	М	5		500

В	М	5	экстракт ДО	1000
С	Ф	5		2000
D (контроль)	Ф	5		-
Крысы				
А	М	5	экстракт ДО	500
В	Ф	5		1000
С	М	5		2000
D (контроль)	Ф	5		-

Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности составляет 14 суток. В первый день после введения образца животные находились под непрерывным наблюдением. Регулярно фиксировали общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, динамику массы тела и изменение массы внутренних органов. Степень токсичности препарата оценивали по изменению общего состояния животных, летальностью и влиянием на динамику массы тела животных.

При изучении острой токсичности на фоне введения экстракта отмечали проявление и выраженность патологических признаков: наличия аномальных поз, аномальных движений, самотравмирования, тремора, судорог, синдрома Штраубе.

При изучении безопасности экстракта душицы обыкновенной на животных, при однократном введении доз до 2000 мг/кг отмечено отсутствие патологических изменений в поведении животных. Общее состояние и поведение животных носили обычный характер и не отличались от таковых у животных контрольной группы. Двигательная активность, реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители были без изменений.

Результаты исследования острой токсичности при внутрижелудочном введении тестируемого образца экстракта представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Изменение массы тела животных после однократного введения экстракта душицы обыкновенной

Доза, мг/кг	Средняя масса животных, г				14 сутки
	Исходная масса	1 сутки	5 сутки	10 сутки	
Мыши					
500	30,5±2,2	30,1±3,2	31,4±1,4	33,9±2,1	34,9±2,3
1000	32,2±1,3	31,9±1,5	32,5±2,9	34,5±0,76	33,52±3,1
2000	30,2±2,1	32,7±1,62	34,2±1,5	36,3±2,11	38,1±2,4
Контроль	32,3±1,5	31,5±2,24	33,7±1,4	35,9±2,03	37,5±2,1
Крысы					
500	165,0±1,7	165,6±1,5	168,8±1,9	172,3±2,3	176,2±1,5
1000	173,2±1,32	174,1±1,3	177,3±1,52	180,2±2,11	183,2±1,6
2000	229,4±1,45	230,7±1,3	232,9±2,2	237,1±2,4	240,1±1,23

Контроль	224,8±1,06	225,3±2,52	228,4±1,38	233,4±1,52	236,2±2,26
Примечание: *– $p < 0,05$ по сравнению со значениями у животных контрольной группы.					

Степень токсичности препарата оценивали по изменению общего состояния животных, летальностью и влиянием на динамику массы тела животных. За период проведения исследования гибели животных не наблюдалась (таблица 33).

Таблица 33 – Летальные эффекты (пало/всего) при внутрижелудочном введении экстракта ДО на мышах и крысах

Соединение/Доза, мг/кг	500	1000	20000	Контроль
Мыши	0/5	0/5	0/5	0/5
Крысы	0/5	0/5	0/5	0/5

Как следует из полученных результатов, при определении острой токсичности исследуемый экстракт душицы обыкновенной проявил низкую токсичность. Для мышей и крыс показатель ЛД₅₀ составила 2000 мг/кг внутрижелудочно. Итак, согласно общепринятой классификации токсичности веществ экстракт душицы обыкновенной можно отнести к классу малотоксичных веществ (IV класс токсичности, LD₅₀>5000 мг/кг, внутрижелудочного введение), то есть к практически не токсичным соединениям.

7.6 Исследование на острую токсичность комбинированной мягкой лекарственной формы «ПКГЗ»

Исследования острой токсичности проводили на белых аутбредных мышах и крысах самцах и самках массой 23-36 г. и 160-250 г, соответственно. Все животные были разделены на четыре группы по пять голов в каждой. Животные прошли акклиматизацию в условиях комнаты для проведения испытаний в течение 14 суток. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе свободном доступе к воде и пище.

Для изучения острой токсичности (лекарственная форма - гель) препарат «ПКГЗ» вводили экспериментальным животным внутрижелудочно с помощью специального зонда. Однократно животные получали физиологически допустимый объем препарата. Для исследования острой токсичности были выбраны дозы 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 2000 мг/кг, как рекомендованные к исследованию. Каждую дозу соединения вводили экспериментальным животным, разделенным по 4 группам (по 5 крыс и 5 мышей обоего пола) из расчёта на массу тела. Группа А получали гель дозировкой 500 мг/кг, группа В получали гель дозировкой 1000 мг/кг, группа С получали гель дозировкой 2000 мг/кг, группа D (контрольная) получали дистиллированную воду в объеме 1 мл. Рассчитанную дозу необходимую для введения растворяли в воде объемом для мышей 0,2 мл, для крыс 0,5 мл. Животных взвешивали при формировании групп, перед введением исследуемого геля, а также на 1, 5, 10 и 14 сутки после введения геля. Перед и после введения вещества животные не получали пищу в течение 2-3 часов. Наблюдение за животными проводили в течение 14 суток. Дизайн исследования представлен в таблице 34.

Таблица 34 – Дизайн исследования острой токсичности противокариесного геля – ПКГ 3 при внутрижелудочном введении на крысах и мышах

№ группы	Пол (М/Ф)	Кол-во животных	Исследуемое ЛС	Доза ЛС мг/кг
Мыши				
А	М	5	ПКГ 3	500
В	М	5		1000
С	Ф	5		2000
D (контроль)	Ф	5		-
Крысы				
А	М	5	ПКГ 3	500
В	Ф	5		1000
С	М	5		2000
D (контроль)	Ф	5		-

Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности составляет 14 суток. В первый день после введения образца

животные находились под непрерывным наблюдением. Регулярно фиксировали общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, динамику массы тела и изменение массы внутренних органов. Степень токсичности препарата оценивали по изменению общего состояния животных, летальностью и влиянием на динамику массы тела животных.

При изучении острой токсичности на фоне введения ПКГ 3 отмечали проявление и выраженность патологических признаков: наличия аномальных поз, аномальных движений, самотравмирования, тремора, судорог, синдрома Штраубе.

При изучении безопасности противокариесного геля – «ПКГ3» на животных, что при однократном введении доз до 2000 мг/кг отмечено отсутствие патологических изменений в поведении животных. Общее состояние и поведение животных носили обычный характер и не отличались от таковых у животных контрольной группы. Двигательная активность, реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители были без изменений.

Результаты исследования острой токсичности при внутрижелудочном введении тестируемых образцов геля представлены в таблице 35.

Таблица 35 – Изменение массы тела животных после однократного введения ПКГ3

Доза, мг/кг	Средняя масса животных, г				14 сутки
	Исходная масса	1 сутки	5 сутки	10 сутки	
Мыши					
500	28,5±1,4	29,1±1,2	30,4±1,3	30,9±1,6	31,2±2,5
1000	29,5±3,06	30,3±2,57	31,5±1,5	33,6±2,36	33,72±2,6
2000	32,7±1,52	32,1±1,56	32,3±2,7	35,72±1,51	37,96±1,03
Контроль	30,8±3,27	30,5±3,42	33,4±2,53	34,65±1,34	35,62±1,43
Крысы					
500	225,0±2,5	225,5±0,7	231,4±1,9	234,2±1,8	234,9±2,68
1000	215,3±2,53	215,7±2,57	218,7±2,82	220,5±4,51	221,4±2,56
2000	230,4±2,55	230,2±1,21	232,4±1,92	236,3±1,87	239,4±2,42
Контроль	221,7±2,08	222,7±1,32	226,8±2,36	230,4±2,48	232,4±1,32

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению со значениями у животных контрольной группы.

Степень токсичности препарата оценивали по изменению общего состояния животных, летальностью и влиянием на динамику массы тела животных. За период проведения исследования гибели животных практически не наблюдалась (таблица 36).

Таблица 36 – Летальные эффекты (пало/всего) при внутрижелудочном введении противокариесного геля ПКГ 3 на мышах и крысах

Соединение/Доза, мг/кг	500	1000	20000	Контроль
Мыши	0/5	0/5	1/5	0/5
Крысы	0/5	0/5	0/5	0/5

Во время периода исследования животные были аккуратными, активными, имели положительный аппетит, адекватно реагировали на звуковые и световые раздражители, процессы мочеиспускания и дефекации протекали нормально, судорог и нарушений дыхания или каких-либо других проявлений токсического воздействия не наблюдалось. Исследование динамики массы тела животных на протяжении эксперимента свидетельствует об отсутствии токсического влияния препарата на процессы роста животных.

Как следует из полученных результатов, при определении острой токсичности исследуемый противокариесный гель – ПКГ 3 проявил низкую токсичность. Для мышей и крыс показатель ЛД₅₀ составила 2000 мг/кг внутрижелудочно. Итак, согласно общепринятой классификации токсичности веществ ПКГ 3 можно отнести к классу малотоксичных веществ (IV класс токсичности, LD₅₀>5000 мг/кг, внутрижелудочного введение), то есть к практически не токсичным соединениям.

Гистопатология ПКГ3

Для исследования токсичности были исследованы гистопатологические признаки изменений ткани печени и сердца. Печень является основным органом-мишенью токсичности, поэтому повреждение печени может нарушить целостность гепатоцитов, что приведет повреждению гепато-билиарной системы, нарушит биосинтетическую и метаболическую способность печени и может показать гистопатологические аномалии, такие как микро- и макровезикулярная вакуолизация цитоплазмы, гидрорическая дистрофия, некрозы гепатоцитов, фиброз и сосудистые аномалии, такие как гиперемия центральных вен и синусоидов печени, обычно наблюдаемые при гепатотоксичности.

Сравнительная гистоморфометрическая характеристика изменений ткани сердца и печени самцов и самок животных в исследуемых группах при введении ПКГ 3 в окраске гематоксилином и эозином представлена в таблице 37.

Исследование срезов печени, как самцов, так и самок животных контрольной группы, получавших внутрижелудочно питьевую воду, показало нормальную гистоархитектонику печени. Во всех случаях наблюдались нормальные, четко очерченные гистологические структуры без каких-либо признаков сосудистых или воспалительных изменений. Срезы печени демонстрировали соответствующий гистологической норме вид центральной

вены и печеночных синусоидов, выстланных эндотелиальными клетками. Гепатоциты нормального размера и формы, располагались радиально, образуя тяжи вокруг центральной вены, в их цитоплазме не было отмечено вакуолей.

Таблица 37 – Сравнительная гистоморфометрическая характеристика изменений ткани печени и сердца

Наименование показателя	Контроль (M±SD)		500 мг/кг (M±SD)		1000 мг/кг (M±SD)		2000 мг/кг (M±SD)	
	♂ (n=10)	♀ (n=10)	♂ (n=10)	♀ (n=10)	♂ (n=10)	♀ (n=10)	♂ (n=10)	♀ (n=10)
Показатели печени								
- сосудистые	0	0	0.20±0.4 2	0.40±0.9 7	0.30±0.6 7	0.40±0.7 0	0.50±1.0 8	0.40±0.7 0
- воспалит.-некрот.	0	0	0.40±0.5 2	0.30±0.4 8	0.50±0.7 1	0.30±0.4 8	0.50±0.7 1	0.78±1.2 0
Показатели сердца								
- сосудистые	0	0	0.40±0.7 0	0.30±0.4 8	0.50±0.8 5	0.50±1.0 8	0.60±1.0 7	0
- воспалит.-некрот.	0	0	0.60±0.7 0	0.20±0.4 2	0.40±0.7 0	0.10±0.3 2	0.30±0.6 7	0
Примечание: *– p < 0,05 по сравнению со значениями у животных контрольной группы								

Гистология срезов печени контрольных крыс показала нормальную гепатоцеллюлярную архитектуру наряду с хорошо сохранившимися печеночными клетками, видимыми центральными венами и отсутствием гистологических аномалий (рисунок 38). У животных, получавших дозу 500 мг/кг, не обнаружено каких-либо неблагоприятных воздействий на гистоархитектонику гепатоцитов. Срезы печени, взятые у группы, получавшей дозу 1000 мг/кг, показали некоторые гистологические изменения, такие как умеренное расширение синусоидов, легкая дезорганизация печеночных тяжей, стеатоз и гепатоциты. Кроме того, введение ПКГЗ в самой высокой дозе (2000 мг/кг) вызывало незначительное изменение гистоархитектоники обработанных крыс, показывая незаметное застойное расширение центральной вены, легкую дезорганизацию печеночных тяжей и двоядерные гепатоциты.

Гистологическая оценка сердца показала незначительное изменение архитектуры сердца у животных, которым вводили ПКГЗ в дозах 1000 и 2000 мг/кг. С другой стороны, никаких существенных изменений сердечной функции у всех обработанных животных не наблюдалось.

В группе животных, получавших ПКГЗ в дозе 1000 мг/кг, наблюдались нормальные, четко очерченные гистологические структуры без признаков сосудистых изменений. Изменений в гистоархитектонике, портальных триад, гепатоцитов, синусоидов, воспаления и наличия дистрофии, некроза и жировых изменений у животных в группе в исследуемых гистологических срезах не выявлено.

Кроме того, ни в одном случае не было отмечено изменения диаметра и внешнего вида центральных вен, печеночных синусоидов и портальных вен.

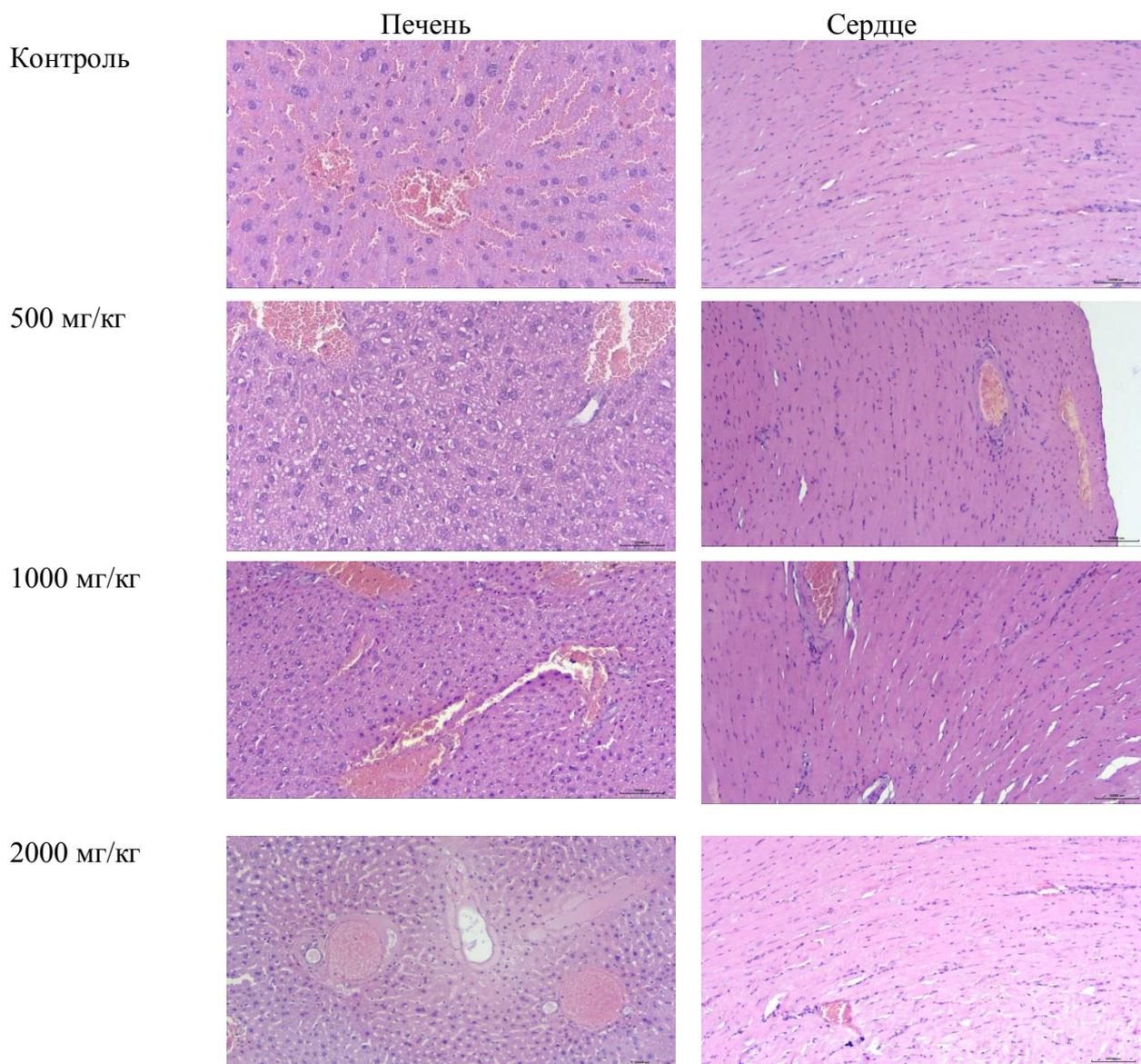


Рисунок 38 – Гистология печени и сердце животных, получавших ПКГЗ

Во всех группах у животных обоего пола, получавших ПКГЗ во всех исследуемых дозировках, не было выявлено тяжелых и умеренных гистопатологических признаков сосудистых и воспалительно-некротических изменений.

Целью данного исследования было изучение влияния ПКГЗ в дозе 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 2000 мг/кг на гистологическую структуру печени и сердца у животных. Окрашивание гематоксилином и эозином показало, что ПКГЗ в исследуемых дозировках не вызывает значительных структурных изменений в печени и сердце животных обоего пола по сравнению с животными контрольной группы.

Такие минимальные гистологические изменения свидетельствуют о безопасности в исследованиях на животных и убедительно свидетельствуют о том, что образец ПКГЗ при однократном внутрибрюшном введении *in vivo* относится к малотоксичным веществам (IV класс токсичности).

8 ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОМИКРОБНОГО И ПРОТИВОКАРИЕСНОГО СРЕДСТВА С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*ORIGANUM VULGARE L.*)

Финансирование проекта осуществляется при поддержке отечественных инвесторов, Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Производство продукции планируется осуществлять на базе НАО МУК.

Расчет необходимых инвестиций в оборудование строился на основании требований технологического процесса и условий производства. В течение нескольких месяцев, была проведена техническая и финансовая экспертиза оборудования различных производителей. В ходе работ был подготовлен «короткий лист» («short-list») производителей оборудования, отвечающих предъявляемым требованиям.

На основании этого списка, были проведены переговоры о технологических требованиях к оборудованию, условиях оплаты, поставки и монтажа оборудования. По результатам проведенных переговоров была составлена окончательная спецификация требуемого оборудования содержит детальную разбивку оборудования.

Расчет себестоимости производства противомикробного и противокариесного геля с эфирным маслом душицы обыкновенной строился исходя из фактических расходов, изменений в технологии с учетом масштабов производства, необходимых расходов на сырье и материалы и других факторов.

Основной статьей себестоимости являются расходы на сырье и материалы, которые являются переменными затратами и полностью зависят от объемов производства.

Использование сырья позволяет создать качественное натуральное, недорогое противомикробное и противокариесное средство с эфирным маслом душицы обыкновенной.

С целью стимулирования технологических стартапов и развития инновационных компаний малого и среднего бизнеса, АО «Фонд науки» был проведен поиск проектов на бизнес-акселерацию. По итогам конкурса из поданных 370 проектов 20 проектов выиграли обучение. Среди которых был и наш проект. В рамках данной бизнес-акселерации были проведены маркетинговые исследования и проведены технико-экономические расчеты.

В таблице 38 приведен перечень необходимого оборудования для реализации данного проекта.

Таблица 38 - План закупа оборудования и целевое использование

№	Наименование	Кол-во	Цена	Сумма
1	Турбонаполняющая машина для геля	1	17 500 000	17 500 000
2	Вакуумный реактор с гомогенизатором и мешалкой	1	5 000 000	5 000 000
3	Сырье для геля	1	4 000 000	4 000 000
4	Этикетировочная машина	1	3 600 000	3 600 000
5	Инкубатор	1	1 800 000	1 800 000
6	ФОТ	1	12 600 000	12 600 000
7	Маркетинг	1	3 500 000	3 500 000
	Итоговая сумма			48 000 000

В таблице 39 описан план реализации противомикробного и противокариесного геля с эфирным маслом душицы обыкновенной и прогнозируемая выручка.

Таблица 39 - План реализации и выручки

№	Наименование	Цена	Объем в месяц	Выручка за месяц	Выручка за календарный год		
					2023	2024	2025
1	Гель (10 г)	575	3500	2 012 500	24 150 000	28 980 000	33 810 000
2	Гель (50 г)	2875	4500	12 937 500	155 250 000	186 300 000	217 350 000
3	Гель (75 г)	4315	1600	6 904 000	82 848 000	99 417 600	115 987 200
	Всего выручки			21 854 000	262 248 000	314 697 600	367 147 200

В таблице 40 приведен расчет себестоимости противомикробного и противокариесного геля с эфирным маслом душицы обыкновенной. Проведена калькуляция себестоимости на единицу продукции.

Таблица 40 – Расчет себестоимости продукции

№	Статьи затрат	Ед.изме р	Количеств о	Цена за ед., тг	Сумма, тг
1	Эфирное масло душицы обыкновенной	мл	1,2	45	54
2	Экстракт душицы обыкновенной	г	0,6	37	22,2
3	На-КМЦ	г	2,2	11	24,2
4	Глицерин	мл	2	8	16
5	Подсластитель натуральный	г	0,3	40	12

6	Вода очищенная	мл	100	0,55	55
	Итого				183,4
Гель (50 г)					
№	Статьи затрат	Ед.изме р	Количеств о	Цена за ед., тг	Сумма, тг
1	Эфирное масло душицы обыкновенной	мл	6	45	270
2	Экстракт душицы обыкновенной	г	3	37	111
3	На-КМЦ	г	11	11	121
4	Глицерин	г	10	8	80
5	Подсластитель натуральный	г	1,5	1,10	1,65
6	Вода очищенная	мл	100	0,55	55
	Итого				638,65
Гель (75 г)					
№	Статьи затрат	Ед.изме р	Количеств о	Цена за ед., тг	Сумма, тг
1	Эфирное масло душицы обыкновенной	мл	9	45	405
2	Экстракт душицы обыкновенной	г	4,5	37	166,5
3	На-КМЦ	г	16,5	11	181,5
4	Глицерин	г	15	8	120
5	Подсластитель натуральный	г	2,25	1,1	2,475
6	Вода очищенная	мл	100	0,55	55
	Итого				930,475

Себестоимость одной единицы продукции противомикробного и противокариесного геля с эфирным маслом душицы обыкновенной составило 183,4 тг, производственная себестоимость – 575 тг, за 10 г, 638,65 тг, производственная себестоимость – 2875 тг, за 50г, 930, 475 тг - производственная себестоимость 4315 тг, за 75г, при рентабельности 69,6% срок окупаемости составляет 1 года.

Данные таблицы иллюстрируют следующие показатели: расходы на аренду, затраты на зарплату, социальные отчисления, транспортные расходы, и прочее. Таблицы 41-42.

Таблица 41 - Постоянные затраты

№	Статьи затрат	Периодичность затрат, месяцев	Сумма, тенге
1	Арендные платежи	1 раз в месяц	300 000
2	Затраты на зарплату	1 раз в месяц	800 000
3	Социальные отчисления	1 раз в месяц	37 450
4	ОСМС	1 раз в месяц	18 975

5	Транспортные расходы	1 раз в месяц	40 000
6	Расходы на рекламу	1 раз в месяц	200 000
7	Амортизационные отчисления	1 раз в месяц	600 000
8	Коммунальные платежи	1 раз в месяц	50 000
9	Расходы на безопасность	1 раз в месяц	100 000
10	Упаковка (тубы, пачки, этикетки...)	1 раз в месяц	730 000
11	Прочие расходы	1 раз в месяц	30 000
	Итоговая сумма		2 906 425

Таблица 42 – Закуп сырья и материалов для производства продукции

№	Наименование	Показатели за месяц	Календарный год		
			2023	2024	2025
1	Гель (10 г)	641 900	7 702 800	9 243 360	10 783 920
2	Гель (50 г)	825 300	34 487 100	41 384 520	48 281 940
3	Гель (75 г)	293 440	17 865 120	21 438 144	17 865 120
	Прямые расходы на закуп сырья и материалов	1 760 640	60 055 020	72 066 024	76 930 980

На основе маркетингового анализа рынка был выявлен потенциал продаж, который составляет 115 200 единиц упаковок в год при 100 % нагрузке на производство.

Таблица 43 отражает прогнозируемую реализацию продукта в натуральном и денежном выражениях, сумму переменных расходов и процентное соотношения выхода на плановое производство. Показатель процентного прогноза выхода на плановую мощность учитывает постепенное увеличение производства продукции в соответствии с расширением объемов продаж, за счет увеличения постоянных расходов на продвижение продукции, а также увеличения узнаваемости продукции на рынке.

Таблица 43 - Отчет о прибылях и убытках

	Показатели	Годы реализации			Всего за 3 года
		2023	2024	2025	
1	Всего выручки	262 248 000	314 697 600	367 147 200	944 092 800
	Гель (10 г)	24 150 000	28 980 000	33 810 000	86 940 000
	Гель (50 г)	155 250 000	186 300 000	217 350 000	558 900 000
	Гель (75 г)	82 848 000	99 417 600	115 987 200	298 252 800
2	Всего расходов	95 232 120	107 543 124	112 408 080	315 183 324
	Прямые расходы на сырье и материалы	60 055 020	72 066 024	76 930 980	209 052 024

	Арендные платежи	3 300 000	3 600 000	3 600 000	10 500 000
	Затраты на зарплату	9 600 000	9 600 000	9 600 000	28 800 000
	Социальные отчисления	449 400	449 400	449 400	1 348 200
	ОСМС	227 700	227 700	227 700	683 100
	Транспортные расходы	480 000	480 000	480 000	1 440 000
	Расходы на рекламу	2 400 000	2 400 000	2 400 000	7 200 000
	Коммунальные платежи	600 000	600 000	600 000	1 800 000
	Упаковка (тубы, пачки, этикетки...)	8 760 000	8 760 000	8 760 000	26 280 000
	Амортизационные отчисления	7 200 000	7 200 000	7 200 000	21 600 000
	Прочие расходы	360 000	360 000	360 000	1 080 000
3	Прибыль до налогообложения	167 015 880	207 154 476	254 739 120	628 909 476
	ИПН, 3%	7 867 440	9 440 928	11 014 416	28 322 784
4	Чистая прибыль	159 148 440	197 713 548	243 724 704	600 586 692
5	Рентабельность продаж, %	63,7%	65,8%	69,4%	66,6%

Таким образом, представленное технико-экономическое обоснование продукции показывает целесообразность выпуска противомикробного и противокариесного средства с эфирным маслом душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) в промышленных масштабах.

Конкурентные преимущества проекта, а также нацеленность на конкурентную нишу позволяют считать целесообразным дальнейшее развитие проекта до этапа массового производства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кариес зубов - наиболее распространенное хроническое инфекционное заболевание полости рта и основная причина потери зубов у детей и молодых людей. Согласно статистическому анализу данных Всемирной организации здравоохранения, распространенность кариеса зубов составляет 60–80% у детей и почти 100% у взрослого населения, т.е. полость рта образует уникальную экологическую нишу для микроорганизмов, большая часть которых накапливается на поверхности зубов, образуя зубной налет (биопленку полости рта). Кариесогенные бактерии, которые могут ферментировать углеводы с образованием кислоты и дальнейшей деминерализацией поверхности зубов, являются основными этиологическими факторами кариеса зубов. Кариес зубов, представляет собой инфекцию бактериального происхождения, которая вызывает деминерализацию и разрушение твердых тканей, как правило, за счет производства кислоты в результате бактериальной ферментации остатков пищи, накопленных на поверхности зуба. Кариес зубов — это заболевание, которое чаще всего вызывается высоким уровнем кариесогенных бактерий *Streptococcus mutans*, которые образуют зубной налет. Поверхность зубов разрушается кислотами *Streptococcus mutans* и побочными продуктами углеводного обмена.

Стоматологический кариес не только влияет на здоровье полости рта, но и коррелирует с некоторыми другими системными заболеваниями, такими как диабет, что указывает на то, что профилактика и лечение кариеса зубов важны для снижения этого глобального риска для здоровья.

Среди множества препаратов, применяемых для профилактики и лечения слизистой оболочки полости рта, отдельно следует выделить антимикробные и противокариесные средства, которые задерживают рост патогенов в очаге поражения и не дают болезни прогрессировать.

В современной фармацевтической и стоматологической практике актуальным вопросом является создание новых эффективных средств для лечения острой и хронической патологии полости рта. Часто используют такие лекарственные формы, как гели и мази с антибактериальным и противовоспалительным эффектами. Они обладают пролонгированным действием, имеют простую технологию и комфортны в применении. Гель совмещает в себе свойства твердого тела и жидкости, поэтому очень эффективен при аппликациях; благодаря образованию водных внутренних структур, позволяет включать в его состав химически несовместимые вещества, так как водная оболочка препятствует химической реакции между ними. Особые свойства геля - одновременно твердого тела и жидкости, делают его средством нового поколения в стоматологии.

В стоматологии растения часто используются из-за их высоких противовоспалительных и противомикробных свойств, а также в качестве антиоксидантов, антисептиков, болеутоляющих, противогрибковых, антибактериальных и противовирусных средств.

Ароматические растения традиционно использовались в народной медицине, а также для продления срока хранения пищевых продуктов, демонстрируя ингибирование против бактерий, грибков и дрожжей. Эфирные масла и экстракты нескольких видов растений способны бороться с микроорганизмами, связанными с кожей, кариесом зубов и порчей пищевых продуктов, включая грамотрицательные и грамположительные бактерии. Натуральные продукты недавно были более тщательно исследованы как перспективные средства для профилактики заболеваний полости рта, особенно болезней, связанных с зубным налетом, таких как кариес зубов.

Таким образом, в результате проведенных исследований сформулированы следующие ВЫВОДЫ:

1 Накопление биопленки бактериями *Streptococcus mutans* на твердых зубных тканях приводит к кариесу зубов, который остается одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта. Следовательно, разработка новых противобактериальных агентов имеет решающее значение. Нами проведен анализ компонентного состава эфирных масел 14 видов распространенных казахстанских растений (*Achillea nobilis* L., *Achillea millefolium* L., *Artemisia austriaca* L., *Hyssopus ambiguus* (Trautv.) Pjin., *Matricaria chamomilla* L., *Mentha piperita* L., *Melissa officinalis* L., *Nepeta cataria* L., *Origanum vulgare* L., *Pinus sylvestris* L., *Thymus marschallianus* Willd., *Thymus crebrifolius* Klok., *Thuja orientalis* Endl., *Ziziphora clinopodioides* Lam) и изучено их влияние на образование биопленок *Streptococcus mutans*.

В результате скрининга образцов эфирных масел, выделенных из доступных растительных источников Центрального Казахстана, на образование биопленок *Streptococcus mutans*, впервые выявлено что эфирное масло *Origanum vulgare* L. снижает образование биопленки *S. mutans* на 98% по сравнению с необработанными бактериями.

2 Сбор и заготовка растительного сырья душицы обыкновенной были осуществлены согласно Надлежащей практикой сбора лекарственных растений в окр. г. Щучинск Бурабайского района Акмолинской области (52°56' с. ш. 70°12' в.д.) и в Восточно-Казахстанской области.

В связи с тем, что эксплуатационные запасы душицы обыкновенной находятся в пределах от 4.3 – 22.9 тонн, то рекомендовано ежегодно собирать сырье в казахстанской части Алтая, а именно в окрестностях горных хребтов Ивановский (12.9+0.9), Нарын (16.5+1.9), Листвяга (22.99+1.7) тонн. Общая площадь зарослей душицы обыкновенной в ВКО составляет 120,8 га с плотностью запаса сухого сырья – 25.6 ц/га.

Заготовку сырья *Origanum vulgare* L. рекомендовано производить сушку сырья на открытом воздухе без воздействия прямых солнечных лучей, размещая его на сушильных рамах слоями в 10 – 15 см при температуре не выше 18°C.

Диагностическими признаками сырья душицы обыкновенной являются форма и расположение листьев на стебле, ветвистость побегов и их окраска. Четырехгранные, прямые, в верхней части - разветвленные. Форма и размер листовых пластин, форма края, верхушки и основания, цвет нижней и верхней

стороны, степень опушения, расположение железок. Листья продолговатые, супротивные, черешковые, цельнокрайные, на верхушке заостренные, обе стороны окрашены в зеленый цвет.

Исследованы фармацевтико-технологические параметры сырья душицы обыкновенной для оптимальной технологии экстрагирования: удельная масса ($1,73 \pm 0,02 \text{ г/см}^3$), объемная масса ($0,35 \pm 0,01 \text{ г/см}^3$), порозность ($0,37 \pm 0,01 \text{ г/см}^3$), свободный объем слоя сырья ($0,81 \pm 0,01 \text{ г/см}^3$), коэффициент поглощения экстрагента (3,45).

Для мажорного выхода суммы экстрактивных веществ выбран спирт этиловый (70%) с оптимальным выходом 55,69%.

3 Из сырья душицы обыкновенной были получены экстракты различными методами: настаиванием, ультразвуковой кавитацией и микроволновой экстракцией. Сухой экстракт получали по технологии: ультразвуковая экстракция (получение), очистка, сгущение и выпаривание. Для последующей наработки и получения субстанции субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» необходимо использовать ультразвуковой метод и для экстракции использовать 70% этиловый спирт для получения максимального выхода биологически активных веществ. При изучении технологических характеристик надземной части орегано установлено, что оптимальная степень измельчения сырья составляет 1-5 мм, соотношение сырье – экстрагент – 1:20.

Разработан новый способ получения сухого экстракта душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), который за счет применения ультразвуковой экстракции, характеризуется высокой производительностью технологического процесса, низким расходом экстрагента, исключением трудоемких и времязатратных процедур, что делает его доступным, рациональным и экономичным.

Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанции «Душицы обыкновенной экстракт сухой» (ЛР №156 от 24 марта 2021), в соответствии с которых производится наработка опытных партий для дальнейших фармацевтических и фармакологических работ.

Разработана технологическая схема получения эфирного масла из надземной части душицы обыкновенной. Разработана спецификация качества на эфирное масло: описание, идентификация, тяжелые металлы, микробиологическая чистота, количественное определение, упаковка, маркировка, транспортировка, хранение, срок хранения, основное фармакологическое действие, время удерживания карвакрола - 20,3 мин; количественное определение - 65%. Получены данные по долгосрочному испытанию эфирного масла на основе растительного сырья душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), существенные изменения по результатам определения показателей качества не наблюдались.

4 Проведена фармацевтическая разработка геля на основе эфирного масла и сухого экстракта душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.). Разработан оптимальный состав, технология получения геля, в состав которого входят: фармацевтическая субстанция для практического применения растительного

происхождения – сухой экстракт, полученный в результате ультразвуковой кавитации - 0,6; эфирное масло душицы обыкновенной – 1,2; Na-КМЦ – 2,2; глицерин – 2,2; подсластитель натуральный – 0,3; вода очищенная – до 100. Разработана технология получения геля на основе фармацевтических субстанций из души обыкновенной. Разработана спецификация качества на гель на основе, а также разработан проект НД. Результаты испытания стабильности геля на основе эфирного масла и сухого экстракта при долгосрочных условиях: при температуре $(25\pm 2)^\circ\text{C}$, относительной влажности $(60\pm 5)\%$ показали, что существенные изменения по результатам определения показателей качества не наблюдались. Исследования по определению стабильности геля продолжаются.

Разработаны методики качественного и количественного определения действующего вещества карвакрола в мягкой лекарственной форме геля на основе эфирного масла экстракта из травы душицы обыкновенной газожидкостной хроматографии методом. На всех этапах стандартизации объекта в ряду сырья – субстанция – препарат для оценки его подлинности и количественного определения действующего вещества в качестве внешнего стандарта использовали карвакрол – стандартный образец, выделенный нами из эфирного масла душицы обыкновенной.

Получены воспроизводимые результаты физико-химических, биофармацевтических, фармакологических показателей геля на основе эфирного масла и этанольного экстракта из травы душицы обыкновенной.

Исследовано, что образец стоматологического геля в дозе 25 мг/кг обладают противовоспалительной активностью, что выразилось в достоверном уменьшении на 41,4%, соответственно количества воспалительного экссудата в брюшной полости у крыс по сравнению с контролем. Противовоспалительная активность стоматологического геля с эфирным маслом и этанольным экстрактом душицы обыкновенной сопоставима с препаратом сравнения диклофенаком натрия.

Впервые проведено изучение противокариесное и антибактериальное действие опытных образцов стоматологического геля. Произведен выбор образцов стоматологического геля, проявляющих сравнительно высокий противокариесный и антибактериальный эффект в отношении тест-штаммов при минимальных концентрациях эфирного масла и экстракта душицы обыкновенной.

При определении острой токсичности исследуемый противокариесный гель проявил низкую токсичность. Для мышей и крыс показатель ЛД₅₀ составила 2000 мг/кг внутрижелудочно. Согласно общепринятой классификации токсичности веществ новый разработанный нами гель можно отнести к классу малотоксичных веществ (IV класс токсичности, LD₅₀>5000 мг/кг, внутрижелудочного введение), то есть к практически не токсичным соединениям.

5 Проведено технико-экономическое обоснование производства противомикробного и противокариесного средства с эфирным маслом душицы

обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), которое показывает целесообразность выпуска продукции в промышленных масштабах.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Peres M.A., Macpherson L.M.D., Weyant R.J. et al. Oral diseases: a global public health challenge // *The Lancet*. - 2019. - Vol. 394. - P. 249–260.
- 2 Petersen P.E., Bourgeois D., Ogawa H., Estupinan-Day S., Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health // *Bulletin of the World Health Organization*. - 2005. - Vol. 83. - P. 661–669.
- 3 Beighton D. Can the ecology of the dental biofilm be beneficially altered // *Advances in Dental Research*. - 2009. - Vol. 21. - P. 69–73.
- 4 Chandrabhan D., Hemlata R., Renu B., Pradeep V. Isolation of dental caries bacteria from dental plaque and effect of tooth pastes on acidogenic bacteria // *Open Journal of Medical Microbiology*. – 2012. - Vol. 2. – P. 65–69.
- 5 Lippert F. The effects of lesion baseline characteristics and different Sr: Ca ratios in plaque fluid-like solutions on caries lesion de - and remineralization // *Archives of Oral Biology*. - 2012. - Vol. 57. - P. 1299–1306.
- 6 Thomas A., Thakur S. R., and Shetty S. B., Anti-microbial efficacy of green tea and chlorhexidine mouth rinses against *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* spp. and *Candida albicans* in children with severe early childhood caries: a randomized clinical study // *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. - 2016.- Vol. 34. - P. 65–70.
- 7 ElSalhy M., Söderling E., Honkala E. et al. Salivary microbiota and caries occurrence in mutans streptococci - positive school children // *European Journal of Paediatric Dentistry*. - 2016. - Vol. 17. - P. 188–192.
- 8 Petersen P. E. The world oral health report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO global oral health programme // *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. - 2003. Vol. 31. - P. 3–24.
- 9 Wei Qiu, Yujie Zhou, Zixin Li, Tu Huang, YuhanXiao, Lei Cheng, Xian Peng, Lixin Zhang, Biao Ren. Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries // *Hindawi BioMed Research International*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-11.
- 10 Mishra A., Sharma A.; Kumar S., Saxena A., Pandey A. Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities // *BioMed res. int.* – 2013. – P. 1–10.
- 11 Duraipandiyar V., Ayyanar M., Ignacimuthu S. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India // *BMC Complement. Altern. Med.* – 2006. – 6 p.
- 12 Chin Y., Balunas M., Chai H., Kinghorn A. Drug Discovery from Natural Sources // *AAPS J.* – 2006. – P. 239–253.

- 13 Christenhusz M., Byng J. The number of known plants species in the world and its annual increase // *Phytotaxa*. – 2016. – Vol. 261. – P. 21–217.
- 14 MNPS. Medicinal Plant Names Services (MNPS). Available online: <https://www.kew.org/science/our-science/science-services/> medicinal-plant-names-services. 10.01.2019
- 15 Srinivasan D., Nathan S., Suresh T., Lakshmana Perumalsamy P. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine // *J. Ethnopharmacol.* – 2001. – Vol. 74. – P. 217–220.
- 16 Yadav R., Agarwala M. Phytochemical Analysis of some Medicinal Plants // *J. Phytol.* – 2011. - Vol. 3. – P. 10–14.
- 17 Tajkarimi M., Ibrahim S., Cliver D. Antimicrobial Herb and Spice Compounds in Food // *Food Control.* – 2010. – Vol. 21. – P. 1199–1218.
- 18 Pandey A., Kumar S. Perspective on Plant Products as Antimicrobials Agents: A Review // *Pharmacologia.* – 2013. - Vol.4. – P. 469–480.
- 19 WHO. Antimicrobial Resistance; World Health Organization: Geneva, Switzerland, - 2014. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>. 10.01.2019
- 20 Baym M., Stone L., Kishony R. Multidrug Evolutionary Strategies to Reverse Antibiotic Resistance // *Science.* - 2015. - Vol. 351, - 3292 p.
- 21 Davies J., Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2010. - Vol. 74. – P. 417–433.
- 22 WHO. Antimicrobial Resistance. Available online: <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance> 12.01.2019
- 23 Khameneh B., Diab R., Ghazvini K., Fazly Bazzaz B. Breakthroughs in Bacterial Resistance Mechanisms and the Potential Ways to Combat them // *Microb. Pathogen.* – 2016. - Vol. 95. – P. 32–42.
- 24 Tortorella E., Tedesco P., Palma Esposito F., January G., Fani R., Jaspars M., de Pascale D. Antibiotics from Deep-Sea Microorganisms: Current Discoveries and Perspectives // *Mar. Drugs* 2018. - Vol. 16, - 355 p.
- 25 Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S. Development of Novel Drugs from Marine Surface Associated Microorganisms // *Mar. Drugs* 2010. - Vol. 8. – P. 438–459.
- 26 Talib W.H. Anticancer and antimicrobial potential of plant-derived natural products // *Phytochemicals—bioactivities and impact on health.* – 2011. - P. 141–158.
- 27 Chavan S.S., Damale M.G., Shinde D.B., Sangshetti J.N. Antibacterial and antifungal drugs from natural source: a review of clinical development // *In Natural Products in Clinical Trials.* - 2018. - Vol. 1. - P. 114–164.
- 28 Hostett K. Strategy for the Biological and Chemical Evaluation of Plant Extracts // *Pure Appl. Chem.* – 1998. – Vol. 70. - P 1–9.

29 Lampinen J. Continuous Antimicrobial Susceptibility Testing in Drug Discovery // *Drug Plus Int.* – 2005. – Vol. 7. - P. 1–3.

30 Emma N.Q., Antonio R.S., Marta A.V. Screening Antifungal Activities of Selected Medicinal Plants // *J. Ethnopharmacol.* – 2001. – Vol. 74. – P. 89–96.

31 Fazly Bazzaz B., Sarabandi, S., Khameneh B., Hosseinzadeh H. Effect of Catechins, Green Tea Extract and Methylxanthines in Combination with Gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*—Combination Therapy Against Resistant Bacteria // *J. Pharmacopunct.* – 2016. – Vol. 19. – P. 312–318.

32 Fazly Bazzaz B.S., Khameneh B., Zahedian Ostad M.R., Hosseinzadeh H. In vitro evaluation of antibacterial activity of verbascoside, lemon verbena extract and caffeine in combination with gentamicin against drug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* clinical isolates // *Avicenna J. Phytomed.* – 2018. – Vol. 8. - P. 246–253.

33 Ríos J., Recio M. Medicinal Plants and Antimicrobial Activity // *J. Ethnopharmacol.* – 2005. – Vol. 100. – P. 80–84.

34 Savoia D. Plant-Derived Antimicrobial Compounds: Alternatives to Antibiotics // *Future Microbiol.* – 2012. – Vol. 7. – P. 979–990.

35 Кабишев К.Э. Фитопрепараты в отечественной дерматологической практике // *Вестник ВГУ.Серия: Химия.Биология.Фармация.* -2005. №1. - С.189-204.

36 Прокопенко М.В., Сущенко А.В. Комплексный анализ применения фитопрепарата «Пародонтоцид» в консервативном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени // *Стоматология.* – 2020. - <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2020-1-55-58>. 15.01.2019

37 Абитова К. Х., Карачай Л. С., Кучукова А. Д., Маргушева Е. А., Тутукова И. З. Клинико-микробиологическое исследование антибактериальной активности ополаскивателей с отваром ромашки и с хлоргексидином // *Современные наукоемкие технологии.* - 2014. - № 6. - С.77.

38 Алексеева И. В., Соловьева К. Л., Веселкова Т. А. Разработка состава, технологии и оценка качества фитопленок на основе сухих растительных экстрактов // *Современные проблемы науки и образования.* - 2012. - № 5. - С. 355-361.

39 Камина Т. В., Радзишевская Е. Б. Опыт применения растительного препарата «Стоматофит» при лечении воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта в практике врача-стоматолога // *ДентаКлуб.* - 2016. - С. 53-56.

40 Князькова А. С., Семкина О. А., Фатеева Т. В. Разработка состава и технологии изготовления дентального геля комбинированного действия // *Фундаментальные исследования.* - 2014. - № 9. - С. 110-113.

41 Кречина Е. К., Белоруков В. В. Применение фитопрепарата *Artemisia absinthium* L., в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта // *Стоматология*. - 2012. - № 4. - С. 22-24.

42 Кройча Ю., Рейнис А., Кузнецова В., Тейбе У, Росток Д. Лечение галитоза средствами, содержащими эфирные масла // *Стоматология*. - 2012. - № 3. - С. 27-34.

43 Маринина Т. Ф., Савченко Л. Н., Клишина И. И., Погорелов В. И. Ресурсосберегающая технология хвоща полевого травы экстракта жидкого и разработка на его основе стоматологического клея // *Известия Самарского научного центра РАН*. - 2013. - № 3. - С. 748-750.

44 Нижник В. Г., Бондаренко М. А., Бондаренко А. Н., Триандафилов С. А. Лечение пародонтита иммобилизованными растительными средствами // *Кубанский научный медицинский вестник*. - 2010. - № 2. - С. 77-80.

45 Руманова А. И., Брагин А. В., Нагаева М. О. Оценка безопасности применения новой фармацевтической композиции в мягкой лекарственной форме, содержащей антисептик хлоргексидин в комбинации с растительным иммуномодулятором эхинацеей, в эксперимент // *Проблемы стоматологии*. - 2016. - № 2. - С. 55-59.

46 Adaszyńska M., Swarcewicz M. Comparison of chemical composition and antibacterial activity of lavender varieties from Poland // *Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии*. - 2012. - № 2. URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/comparison-of-chemical-composition-and-antibacterial-activity-of-lavender-varieties-from-poland>. 15.01.2019

47 Charantimath S., Oswal R. Herbal therapy in dentistry: a review // *Innovative Journal of Medical and Health Science*. - 2013. -Т. 1, № 1. - P. 1-4.

48 Rodanant P., Surarit R., Sricha R., Korsuwanwong S. Anti-inflammation effect of Thai herbal extracts for potential oral use // *Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии*. - 2012. - № 2. URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/anti-inflammation-effect-of-thai-herbal-extracts-for-potential-oral-use>.

49 Thaweboon B., Thaweboon S. The effect of *Moringa oleifera* L. essential oil on oral pathogens // *Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии*. - 2012. - № 2. URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/the-effect-of-moringa-oleifera-l-essential-oil-on-oral-pathogens>. 15.01.2019

50 Куркин В.А., Варина Н.Р., Авдеева Е.В., Климова Л.Д., Первушкин С.В., Рязанова Т.К. Разработка комбинированных лекарственных фитопрепаратов для стоматологии и лор-практики. // *Наука и инновации в медицине*. – 2016. - №4. – С. 51-57

51 Гончарова Е.И. Препараты лекарственных растений в лечении заболеваний слизистой оболочки рта // Российский стоматологический журнал. - 2015. - № 4. - С. 55-57.

52 Chamani G., Zarei M.R., Mehrabani M., Taghiabadi Y. Evaluation of effects of *Zingiber officinale* on salivation in rats // *Acta Med. Iran.* – 2011. – Vol. 49(6). P. 336-340.

53 Haghpanah P., Moghadamnia A.A., Zarghami A., Motallebnejad M. Mucobioadhesive containing ginger officinal e extract in the management of recurrent aphthous stomatitis: A randomized clinical study// *Caspian. J. Intern. Med.* – 2015. - Winter, 6(1). P. 3-8

54 Hu A.P., Liu Z.X. Clinical effect of Nd: YAG laser combined with total glucosides of paeony for the treatment of erosive oral lichen planus // *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* -2016. – Vol. 25(4). P. 481-483.

55 Sabzghabae A.M., Davoodi N., Ebadian B., Aslani A., Ghannadi A. Clinical evaluation of the essential oil of "*Satureja Hortensis*" for the treatment of denture stomatitis // *Dent. Res. J. (Isfahan).* – 2012. – Vol. 9(2). - P.198-202.

56 Gamboa F., Chaves M. Antimicrobial potential of extracts from *Stevia rebaudiana* leaves against bacteria of importance in dental caries // *Acta Odontol. Latinoam.* – 2012. – Vol. 25(2). – P. 171-175.

57 Ma M.S., Blanksma N.G. *Stevia* in the fight against dental caries// *Ned. Tijdschr. Tandheelkd.* – 2015. – Vol. 122(1). P. 51-55.

58 Papetti A., Mascherpa D., Carazzone C., Stauder M., Spratt D.A., Wilson M., Pratten J., Ciric L., Lingström P., Zaura E., Weiss E., Ofek I., Signoretto C., Pruzzo C., Gazzani G. Identification of organic acids in *Cichorium intybus* inhibiting virulence-related properties of oral pathogenic bacteria // *Food Chem.* – 2013. – Vol. 138(2-3). -P. 1706-1712

59 Соповская А.В., Сампиев А.М., Никифорова Е.Б. Актуальные вопросы номенклатуры, состава и технологии стоматологических гелей // *Современные проблемы науки и образования.* - 2015. - №1. - С. 115-120.

60 Peres M.A., Macpherson L.M.D., Weyant R.J. et al. Oral diseases: a global public health challenge // *The Lancet.* – 2019. - Vol. 394, no. 10194. - P. 249–260.

61 Karygianni L., Ren Z., Koo H., Thurnheer T. Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities // *Trends in Microbiology.* – 2020. – Vol. 28. – P. 668-681.

62 Lemos J.A., Palmer S.R., Zeng L., Wen Z.T., Kajfasz J.K., Freires I.A., Abranches J., Brady L.J. The Biology of *Streptococcus mutans* // *Microbiology spectrum.* - 2019. – Vol. 7(1). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018> 15.01.2019

63 Ham Y, Kim T. Plant Extracts Inhibiting Biofilm Formation by *Streptococcus mutans* without Antibiotic Activity // *J. Korean Wood Sci. Technol.* – 2018. – Vol. 46(6). – P. 692 – 702.

64 Lan Lu, Wei Hu, Zeru Tian, Dandan Yuan, Guojuan Yi, Yangyang Zhou, Qiang Cheng, Jie Zhu, Mingxing Li. Developing natural products as potential anti-biofilm agents // *Chin Med.* – 2019. <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0232-2> 15.01.2019

65 Bjarnsholt T., Jensen P.O., Rasmussen T.B., Christophersen L., Calum H., Hentzer M., Hougen H.P., Rygaard J., Moser C., Eberl L., Hoiby N., Givskov M. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections // *Microbiology.* – 2005. – Vol. 151:3873–80.

66 Harjai K., Kumar R., Singh S. Garlic blocks quorum sensing and attenuates the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* // *FEMS Immunol Med Microbiol.* - 2010. –Vol. 58:161–8.

67 Persson T., Hansen T.H., Rasmussen T.B., Skinderso M.E., Givskov M., Nielsen J. Rational design and synthesis of new quorum-sensing inhibitors derived from acylated homoserine lactones and natural products from garlic // *Org Biomol Chem.* -2005. – Vol. 3:253–62.

68 Kim S.W, Chang I.M., Oh K.B. Inhibition of the bacterial surface protein anchoring transpeptidase sortase by medicinal plants // *Biosci Biotechnol Biochem.* – 2002. – Vol. 66:2751–4

69 Labrecque J., Bodet C., Chandad F., Grenier D. Effects of a high-molecularweight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis* // *J Antimicrob Chemother.* – 2006. – Vol.58:439–43.

70 Yamanaka A., Kimizuka R., Kato T., Okuda K. Inhibitory effects of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation // *Oral Microbiol Immunol.* – 2004. - Vol. 19:150–4.

71 Yamanaka A., Kouchi T., Kasai K., Kato T., Ishihara K., Okuda K. Inhibitory effect of cranberry polyphenol on biofilm formation and cysteine proteases of *Porphyromonas gingivalis* // *J Periodontal Res.* - 2007. - Vol. 42:589–92.

72 Duarte S., Gregoire S., Singh A.P., Vorsa N., Schaich K., Bowen W.H., Koo H. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms // *FEMS Microbiol Lett.* – 2006. - Vol. 257:50–6.

73 Bodet C., Grenier D., Chandad F., Ofek I., Steinberg D., Weiss E.I. Potential oral health benefits of cranberry // *Crit Rev Food Sci Nutr.* – 2008. - Vol. 48:672–80

74 Fu B., Wu Q., Dang M., Bai D., Guo Q., Shen L., Duan K. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by traditional Chinese medicinal herb *Herba patriniae* // *Biomed Res Int.* – 2017. - Vol. 9584703.

- 75 Krishnan T., Yin W.F., Chan K.G. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 by Ayurveda spice clove (*Syzygium aromaticum*) bud extract // *Sensors (Basel)*. – 2012. - Vol:4016–30.
- 76 Chu W., Zhou S., Jiang Y., Zhu W., Zhuang X., Fu J. Effect of traditional Chinese herbal medicine with anti-quorum sensing activity on *Pseudomonas aeruginosa* // *Evid Based Complement Altern Med*. – 2013. - Vol. 648257.
- 77 Tan S.Y., Chua S.L., Chen Y., Rice S.A., Kjelleberg S., Nielsen T.E., Yang L., Givskov M. Identification of five structurally unrelated quorum-sensing inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* from a natural-derivative database // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2013. - Vol. 57:5629–41.
- 78 Vasavi H.S., Arun A.B., Rekha P.D. Anti-quorum sensing activity of flavonoid-rich fraction from *Centella asiatica* L. against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // *J Microbiol Immunol Infect*. – 2016. - Vol. 49:8–15.
- 79 Ouyang J., Sun F., Feng W., Sun Y., Qiu X., Xiong L., Liu Y., Chen Y. Quercetin is an effective inhibitor of quorum sensing, biofilm formation and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* // *J Appl Microbiol*. – 2016. - Vol. 120:966–74.
- 80 Wang J., Song M., Pan J., Shen X., Liu W., Zhang X., Li H., Deng X. Quercetin impairs *Streptococcus pneumoniae* biofilm formation by inhibiting sortase A activity // *J Cell Mol Med*. - 2018. - Vol. 22:6228–37.
- 81 Zeng Y., Nikitkova A., Abdelsalam H., Li J., Xiao J. Activity of quercetin and kaempferol against *Streptococcus mutans* biofilm // *Arch Oral Biol*. – 2018. - Vol.98:9–16.
- 82 Qayyum S., Sharma D., Bisht D., Khan A.U. Identification of factors involved in *Enterococcus faecalis* biofilm under quercetin stress // *Microb Pathog*. – 2018. - Vol. 126:205–11.
- 83 Kim M.K, Lee T.G., Jung M., Park K.H., Chong Y. In vitro synergism and anti-biofilm activity of quercetin-pivaloxymethyl conjugate against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* species // *Chem Pharm Bull*. – 2018. - Vol. 66:1019–22.
- 84 Hotwani K., Baliga S., Sharma K. Phyto-dentistry: use of medicinal plants // *J Complement Integr Med*. – 2014. - Vol.11:233–251.
- 85 Bohora A., Hegde V., Kokate S. Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extract and 2% sodium hypochlorite against *E. faecalis*, *C. albicans* and mixed culture - an in vitro study // *Endodontology*. – 2010. - Vol. 22:8–12.
- 86 Prashant G., Chandu G., Murulikrishna K., Shafiulla M. The effect of mango and neem extract on four organisms causing dental caries: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, and *Streptococcus sanguis*: An in vitro study // *Indian J Dent Res*. – 2007. - Vol. 148–151.

- 87 Pai M.R., Acharya L.D., Udupa N. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel—a 6-week clinical study // *J Ethnopharmacol.* – 2004. - Vol. 90. – P. 99–103.
- 88 Hwang J.Y., Choi S.C., Park J.H., Kang S.W. The use of green tea extract as a storage medium for the avulsed tooth // *J Endod.* – 2011. - Vol.37. –P. 962–967.
- 89 Rasheed A., Haider M. Antibacterial activity of *Camellia sinensis* extracts against dental caries // *Arch Pharm Res.* – 1998. - Vol. 21. – P.:48–352.
- 90 Hamilton-Miller JM. Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*) // *J Med Microbiol.* – 2001. - Vol. 50. – P. 299–302.
- 91 Hotwani K., Baliga S., Sharma K. Phyto dentistry: use of medicinal plants // *J Complement Integr Med.* – 2014. - Vol. 11. – P. 233–251
- 92 Rasooli I., Shayegh S., Taghizadeh M., Astaneh S.D.A. Phytotherapeutic prevention of dental biofilm formation // *Phytother Res.* – 2008. - Vol. 22. – P. 1162–1167.
- 93 Arami S., Mojaddadi M., Pourabbas R., Chitsaz M., Delazar A., Mobayen H. The Effect of *Pistacia atlantica* Var. *mutica* Mouthwash on Dental Plaque Bacteria and Subgingival Microorganisms: a Randomized and Controlled Triple-blind Study // *Drug Res (Stuttg).* – 2015. - Vol. 65. – P. 463–467.
- 94 Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi Surmaghi M.H., Shams-Ardekani M.R., Rahimi R. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology // *ScientificWorld J.* – 2013. - Vol. 219815.
- 95 Pourreza M., Shaw J.D., Zangeneh H. Sustainability of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) in Zagros forests, Iran // *For Ecol Manage.* – 2008. - Vol. 255. – P. 3667– 3671.
- 96 Roozegar M.A., Jalilian F.A., Havasian M.R., Panahi J., Pakzad I. Antimicrobial effect of *Pistacia atlantica* leaf extract // *Bioinformation.* – 2016. - Vol. 12. – P.19–21.
- 97 Irlan Almeida Freires, Carina Denny, Bruna Benso, Severino Matias de Alencar, Pedro Luiz Rosalen. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review // *Molecules.* – 2015. - Vol. 20, - P. 7329-7358.
- 98 Kryvtsova M.V., Kostenko Y.Y., Salamon I. Compositions of essential oils with antimicrobial properties against isolates from oral cavities of patients with inflammatory diseases of the periodontium // *Regulatory Mechanisms in Biosystems.* – 2018. - Vol. 9(4).
- 99 Shedoeva A., Leavesley D., Upton Z., Fan C. Wound Healing and the Use of Medicinal Plants // *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM.* – 2019.

100 Gościński A., Paczkowska-Walendowska M., Skotnicka A., Ruchała M. A., Cielecka-Piontek J. Can Plant Materials Be Valuable in the Treatment of Periodontal Diseases? Practical Review // *Pharmaceutics*. - 2021. - Vol. 13(12), 2185.

101 Pandita V., Patthi B., Singla A., Singh S., Malhi R., Vashishtha V. Dentistry meets nature-role of herbs in periodontal care: A systematic review // *J Indian Assoc Public Health Dent*. – 2014. - Vol.12:148-56.

102 Руманова А. И., Нагаева М. О., Мамедханова А. Р., Качко Е. П. Возможности применения лекарственных растительных препаратов для местного лечения воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта // *Университетская Медицина Урала*. – 2017. - Номер: 2 (9). – С. 85-89.

103 Маринина Т. Ф., Савченко Л. Н., Погорелов В. И., Иванова Л. И., Клишина И. И. Получение хвоща полевого травы экстракта жидкого и разработка стоматологического геля на его основе // *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. - 2010. – Н. 12(4). – С. 462-463.

104 D'Souza S.P., Chavannavar S.V., Kanchanashri B., Niveditha S.B. Pharmaceutical Perspectives of Spices and Condiments as Alternative Antimicrobial Remedy // *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*. - 2017. - Vol. 22(4). – P. 1002–1010.

105 Zarei A., Changizi-Ashtiyani S., Taheri S., Ramezani M. A quick overview on some aspects of endocrinological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* L. // *Avicenna journal of phytomedicine*. - 2015. - Vol. 5(6), - P.485–497.

106 Pallag A., Filip G.A., Olteanu D., Clichici S., Baldea I., Jurca, T., Micle O., Vicaş L., Marian E., Sorişău O., Cenariu M., Mureşan M. *Equisetum arvense* L. Extract Induces Antibacterial Activity and Modulates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Endothelial Vascular Cells Exposed to Hyperosmotic Stress // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2018. 3060525.

107 Besra M., Kumar, V. In vitro investigation of antimicrobial activities of ethnomedicinal plants against dental caries pathogens // *3 Biotech*. - 2018. - Vol. 8(5). 257.

108 Bin C., Al-Dhabi N. A., Esmail G. A., Arokiyaraj S., Arasu M. V. Potential effect of *Allium sativum* bulb for the treatment of biofilm forming clinical pathogens recovered from periodontal and dental caries // *Saudi journal of biological sciences*. - 2020. - Vol. 27(6). - P. 1428–1434.

109 Gutiérrez-Venegas G., Gómez-Mora J. A., Meraz-Rodríguez M. A., Flores-Sánchez M. A., Ortiz-Miranda L. F. Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque // *Heliyon*. - 2019. - Vol. 5(12). - e03013.

110 Awad El-Gied, et al.: Cream and ointment of *Mangifera indica* // *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. – 2015. – Vol. 6(2). – P. 53-58.

111 Proshina L.G., Okonenko T.I., Antropova G.A., Zheznyakovskaya L.F., Proshin A.V. Development of ointment with antimicrobial activity from plant materials and its study // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 613. – 2020. 012116IOP

112 Silpa M., Suresh Joghee., Hamsalakshmi. Formulation and evaluation of antimicrobial ointments from eupatorium glandulosum hort. Ex Kunth // Asian J Pharm Clin Res. – 2020. – Vol. 13. Issue 1. – P. 224-228.

113 Тургумбаева А.А., Устенова Ф.О., Рахимов К.Д., Бельтенова А.Г., Есетова К.У., Самара А. Фармакологическая активность мази цветков растения Safflower *Carthamus Tinctorius* 1, выращенных в Казахстане // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. - 2016. - Н. 3. – С. 67-71.

114 Реестр лекарственных отечественных и зарубежных лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники, разрешенных к медицинскому применению и реализации на территории РК, https://www.ndda.kz/category/gos_reestr_excel 20.02.2019

115 Vaibhav Shende., Roshan Telrandhe. Formulation and evaluation of tooth gel from aloe vera leaves extract // International journal of pharmaceutics & drug analysis. – 2017. -Vol. 5. – P. 394 – 398.

116 Sing R., Bansal S., Mishra M. K. Formulation and Evaluation of Herbal Oral Gel Containing Extracts of Powdered *Psidium guajava* Linn Leaves with *Curcuma longa* Linn Rhizomes to Treat Mouth Ulcer // International Journal of Drug Development and Research. – 2020. - Vol.12. – P. 1-7.

117 Phaechamud T., Mahadlek J., Tuntarawongsa S. Peppermint oil/doxycycline hyclate-loaded Eudragit RS in situ forming gel for periodontitis treatment // J. Pharm. Investig. – 2018. - Vol. 48, - P. 451–464.

118 Tsao T.F., Newman M.G., Kwok Y.Y., Horikoshi A.K. Effect of Chinese and western antimicrobial agents on selected oral bacteria // J. Dent. Res. – 1982. –Vol. 61. – P. 1103–1106.

119 Somu C.A., Ravindra S., Ajith S., Ahamed M.G. Efficacy of an herbal extract gel in the treatment of gingivitis: A clinical study // J. Ayurveda Integr. Med. -2012. - Vol. 3. – P. 85–90.

120 Chava V.K., Vedula B.D. Thermo-Reversible Green Tea Catechin Gel for Local Application in Chronic Periodontitis: A 4-Week Clinical Trial // J. Periodontol. – 2013. - Vol. 84. – P. 1290–1296.

121 Radha M.H., Laxmipriya N.P. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review // J. Tradit. Complement. Med. – 2015. - Vol. 5. – P. 21–26.

122 Gołąb K., Gburek J., Warwas M. Acemannan —properties and medical utility // *Poste Fitoter.* – 2016. –Vol. 17(4). – P. 268–273.

123 Jain S., Rathod N., Nagi R., Sur J., Laheji A., Gupta N., Agrawal P., Prasad S. Antibacterial effect of aloe vera gel against oral pathogens: an in-vitro study // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2016. - Vol. 10. ZC41.

124 Bhat G., Kudva P., Dodwad V. Aloe vera: Nature's soothing healer to periodontal disease // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2011. - Vol.15. – 205 p.

125 Moghaddam A.A., Radafshar G., Jahandideh Y., Kakaei N. Clinical evaluation of effects of local application of aloe vera gel as an adjunct to scaling and root planning in patients with chronic periodontitis // *J. Dent.* – 2017. - Vol. 18. – P. 165–172.

126 Penmetsa G.S., Subbareddy B., Mopidevi A., Arunbhupathi P., Baipalli V., Pitta S. Comparing the effect of combination of 1% ornidazole and 0.25% chlorhexidine gluconate (Ornigreat™) gel and aloe vera gel in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, single-blind, split-mouth study // *Contemp. Clin. Dent.* -2019. - Vol.10. – 226 p.

127 Sayar F., Farahmand A.H., Rezazadeh M. Clinical efficacy of aloe vera toothpaste on periodontal parameters of patients with gingivitis-a randomized, controlled, single-masked clinical trial // *J. Contemp. Dent. Pract.* – 2021. - Vol. 22. – P. 242–247.

128 Vangipuram S., Jha A., Bhashyam M. Comparative efficacy of aloe vera mouthwash and chlorhexidine on periodontal health: A randomized controlled trial // *J. Clin. Exp. Dent.* – 2016. - Vol.8. – P.442 – 447.

129 Chhina S., Singh A., Menon I., Singh R., Sharma A., Aggarwal V. A randomized clinical study for comparative evaluation of Aloe Vera and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash efficacy on de-novo plaque formation // *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* – 2016. - Vol. 6. – P. 251–255.

130 Pradeep A.R., Garg V., Raju A., Singh P. Adjunctive local delivery of aloe vera gel in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial // *J. Periodontol.* – 2016. - Vol. 87. –P. 268–274.

131 da Silva P.S.L., Machado P.Y.C., Catunda B.T., Barbosa A.P.N. Clinical effect of a gel containing *Lippia sidoides* on plaque and gingivitis control // *Eur. J. Dent.* – 2013. - Vol. 7. – P. 28–34.

132 Botelho M.A., Barros G., Queiroz D.B., Carvalho C.F., Gouvea J., Patrus L., Bannet M., Patrus D., Rego A., Silva I., et al. Nanotechnology in phytotherapy: antiinflammatory effect of a nanostructured thymol gel from *Lippia Sidoides* in acute periodontitis in rats // *phyther. Res.* – 2016. - Vol. 30. – P. 152–159.

133 Wang B., Booij-Vrieling H.E., Bronkhorst E.M., Shao J., Kouwer P.H.J., Jansen J.A., Walboomers X.F., Yang F. Antimicrobial and anti-inflammatory thermo-

reversible hydrogel for periodontal delivery // *Acta Biomater.* – 2020. - Vol. 116. – P. 259–267.

134 Ji Q.X., Deng J., Xing X.M., Yuan C.Q., Yu X.B., Xu Q.C., Yue J. Biocompatibility of a chitosan-based injectable thermosensitive hydrogel and its effects on dog periodontal tissue regeneration // *Carbohydr. Polym.* – 2010. - Vol. 82. – P. 1153–1160.

135 Ji Q.X., Zhao Q.S., Deng J., Lü R. A novel injectable chlorhexidine thermosensitive hydrogel for periodontal application: Preparation, antibacterial activity and toxicity evaluation // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2010. - Vol. 21. – P. 2435–2442.

136 Adekenov S.M., Zhabayeva A.N., Itzhanova Kh.I., Amirzhanova A.S., Shaimerdenova Zh.R. Development of the composition and technology of a new dental gel with anti-inflammatory and antimicrobial action // *Eurasian chemico-technological journal.* – 2020. - Vol. 22. – P.117–122.

137 Calpouzos L. Botanical aspects of oregano // *Econ. Bot.* – 1954. - Vol. 8. – P. 222–233.

138 Lukas B., Schmiderer C., Novak J. Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). // *Phytochemistry.* – 2015. - Vol. 119. – P. 32–40.

139 González-Fuentes F., López-Gil M.Á., Mendoza S., Escarpa A. Electrochemical screening of biomarkers in chemotype Mexican oregano oils on single-walled carbon nanotubes screen-printed electrodes // *Electroanalysis.* – 2011. - Vol. 23. - P. 2212–2216.

140 Arslan M., Uremis I., Demirel N. Effects of sage leafhopper feeding on herbage colour, essential oil content and compositions of turkish and Greek oregano // *Exp. Agric.* – 2012. - Vol. 48. – P. 428–437.

141 Asensio C.M., Grosso N.R., Juliani H.R. Quality characters, chemical composition and biological activities of oregano (*Origanum* spp.) essential oils from central and southern Argentina // *Ind. Crop. Prod.* – 2015. - Vol. 63. – P. 203–213.

142 Azizi A., Yan F., Honermeier B. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply // *Ind. Crop. Prod.* – 2009. - Vol. 29. – P. 554–561.

143 Barauskiene R., Venskutonis R., Dambrauskienė E., Viskelis P. Harvesting time influences the yield and oil composition of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and ssp. *Hirtum* // *Ind. Crop. Prod.* – 2013. - Vol. 49. – P. 43–51.

144 Gerami F., Moghaddam P.R., Ghorbanim R., Hassani A. Effects of irrigation intervals and organic manure on morphological traits, essential oil content and yield of oregano (*Origanum vulgare* L.) // *An. Acad. Bras. Cienc.* – 2016. - Vol. 88. – P. 2375–2385.

145 De Falco E., Mancini E., Roscigno G., Mignola E., Tagliatalata-Scafati O., Senatore F. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under different growth conditions // *Molecules*. – 2013. - Vol.18. 14948.

146 Bolechowski A., Moral R., Bustamante M.A., Paredes C., Agullo E., Bartual J., Carbonell-Barrachina A.A. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by the use of winery-distillery composts // *J. Essent. Oil Res.* -2011. - Vol. 23. – P. 32–38.

147 Napoli E., Mazzaglia A., Restuccia C., Ragni, P., Lanza C.M., Ruberto G. The effect of - irradiation on chemical composition, microbial load and sensory properties of sicilian oregano // *LWT Food Sci. Technol.* – 2016. - Vol. 72. – P. 566–572.

148 Morshedloo M.R., Craker L.E., Salami A., Nazeri V., Sang H., Maggi F. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies // *Plant Physiol. Biochem.* – 2017. - Vol. 111. – P. 119–128.

149 Novak I., Sipos L., Kokai Z., Szabo K., Pluhar Z., Sarosi S. Effect of the drying method on the composition of *Origanum vulgare* L. subsp *hirtum* essential oil analysed by gc-ms and sensory profile method // *Acta Aliment.* – 2011. - Vol. 40. – P. 130–138.

150 Figiel A., Szumny A., Gutiérrez-Ortíz A., Carbonell-Barrachina Á.A. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method // *J. Food Eng.* – 2010. - Vol. 98. – P. 240–247.

151 Calín-Sánchez Á., Figiel A., Lech K., Szumny A., Martínez-Tomé J., Carbonell-Barrachina Á.A. Drying methods affect the aroma of *Origanum majorana* L. analyzed by gc–ms and descriptive sensory analysis // *Ind. Crop. Prod.* – 2015. - Vol. 74. – P. 218–227.

152 Sözmen F., Uysal B., Köse E.O., Aktaş Ö., Cinbilgel I., Oksal B.S. Extraction of the essential oil from endemic *Origanum bilgeri* P.H. Davis with two different methods: Comparison of the oil composition and antibacterial activity // *Chem. Biodivers.* – 2012. - Vol. 9. – P. 1356–1363.

153 Hashemi S.M.B., Nikmaram N., Esteghlal S., Mousavi Khaneghah A., Niakousari M., Barba F.J., Roohinejad S., Koubaa M. Efficiency of ohmic assisted hydrodistillation for the extraction of essential oil from oregano (*Origanum vulgare* subsp. *viride*) spices // *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* – 2017. - Vol. 41. – P. 172–178.

154 Zheljzakov V.D., Astatkie T., Schlegel V. Distillation time changes oregano essential oil yields and composition but not the antioxidant or antimicrobial activities // *HortScience*. – 2012. - Vol.47. – P. 777–784.

- 155 Stamenic M., Vulic J., Djilas S., Misic D., Tadic V., Petrovic S., Zizovic I. Free-radical scavenging activity and antibacterial impact of Greek oregano isolates obtained by SFE // *Food Chem.* – 2014. - Vol. 165. – P. 307–315.
- 156 Han F., Ma G.-Q., Yang M., Yan L., Xiong W., Shu J.-C., Zhao Z.-D., Xu H.-L. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano // *J. Zhejiang Univ. Sci. B* – 2017. - Vol.18. –P.79–84.
- 157 Soltani S., Shakeri A., Iranshahi M., Boozari M. A Review of the Phytochemistry and Antimicrobial Properties of *Origanum vulgare* L. and Subspecies // *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* – 2021. - Vol. 20 (2): - P. 268-285.
- 158 Naquvi K.J., Ahamad J, Salma A., Ansari S.H., Najmi A.K. A critical review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological uses of *Origanum vulgare* Linn // *Int. Res. J. Pharm.* – 2019. - Vol.10 (3). – P.7-11
- 159 Verma R.S., Padalia R.C., Chauhan A. Volatile constituents of *Origanum vulgare* L., 'thymol' chemotype: variability in North India during plant ontogeny // *Natural Products Research.* – 2012. - Vol.26(14). –P.1358-1362.
- 160 Shafaghat Ali. Antibacterial Activity and GC/MS Analysis of the Essential Oils from Flower, Leaf and Stem of *Origanum vulgare* ssp. *viride* Growing Wild in Northwest Iran // *Natural product communications.* - 2011. - Vol. 6.
- 161 Lagouri V., Boskou D. Nutrient antioxidants in oregano // *International Journal of Food Science and Nutrition.* -1996. - Vol.47. –P. 493-497.
- 162 Kikuzaki H., Nakatani N. Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.) // *Agricultural and Biological Chemistry.* -1989. - Vol. 53(2). –P. 519-524.
- 163 Hawas U.W., El-Desoky S.K., Kawashty S.A., Sharaf M. Two new flavonoids from *Origanum vulgare* // *Natural Products Research.* – 2008. - Vol. 22(17). – P. 1540-1543.
- 164 Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs // *Food Chemistry.* – 2007. - Vol.105. – P. 940-949.
- 165 Justesen U. Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision activation mass spectrometry for the characterisation of flavonoids in extracts of fresh herbs // *Journal of Chromatography A.* – 2000. - Vol. 902. – P. 369-379.
- 166 Peshkova V.A., Mirovich V.M. Flavonoids of *Origanum vulgare* // *Chemistry of Natural Compounds.* – 1984. - Vol. 20(4):495.
- 167 Kocic-Tanackov S.D., Dimic G.R., Tanackov I.J., Pejin D.J., Mojovic L.V., Pejin J.D. Antifungal activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) extract on the growth of *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food // *Hemijaska Industrija.* – 2012. - Vol. 66(1). – P.33-41.

168 Rao G.V., Mukhopadhyay T., Annamalai T., Radhakrishnan N., Sahoo M. Chemical constituents and biological studies of *Origanum vulgare* Linn // *Pharmacogn. Res.* – 2011. - Vol. 3(2). – P. 143–145.

169 Baranauskaitė J., Jakštas V., Ivanauskas L., Kopustinskiene D.M., Drakšienė G., Masteikova R., Bernatoniene J. Optimization of carvacrol, rosmarinic, oleanolic and ursolic acid extraction from oregano herbs (*Origanum onites* L., *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* and *Origanum vulgare* L.) // *Nat.Prod. Res.* - 2016. - Vol. 30. – P. 672-4.

170 Assiri A.M., Elbanna K., Al-Thubiani A., Ramadan M.F. Cold-pressed oregano (*Origanum vulgare*) oil: a rich source of bioactive lipids with novel antioxidant and antimicrobial properties // *Eur. Food Res. Technol.* – 2016. - Vol. 242. – P. 1013-23.

171 Al-Tameme H.J., Hameed I.H., Idan S.A., Hadi M.Y. Biochemical analysis of *Origanum vulgare* seeds by fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) // *J. Pharmacognosy Phytother.* - 2015. - Vol. 7. – P. 221-37.

172 Koldaş S., Demirtas I., Ozen T., Demirci M.A., Behçet L. Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage // *J. Sci. Food Agr.* – 2015. - Vol. 95. – P. 786-98.

173 Oniga I., Puscas C., Silaghi-Dumitrescu R., Olah NK., Sevastre B., Marica R., Marcus I., Sevastre-Berghian A.C., Benedec D., Pop C.E., Hanganu D. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical Composition and Biological Studies // *Molecules.* – 2018. - Vol. 23.2077.

174 Akrayi, H., Salih, R., Hamad P. In vitro screening of antibacterial properties of *rhus coriaria* and *Origanumvulgare* against some pathogenic bacteria // *Sci. J. Koya Univ.* – 2015. – Vol. 3. – P. 35–41.

175 Pezzani R., Vitalini S., Iriti M. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: An update // *Phytochem. Rev.* – 2017. – Vol.16. – P. 1253–1268.

176 Wang G.C. Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities // *Food Chem.* – 2014. – Vol. 152. – P. 300–306.

177 Goncariuc M., Balmus Z., Benea A., Barsan V., Sandu T. Biochemical diversity of the *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (link) ietswaart genotypes from Moldova // *J. ASM Life Sci.* – 2015. – Vol. 2. – P. 92–100.

178 Khan A., Bashir S., Khan S.R., Gilani A.H. Antiuro lithic activity of *Origanum vulgare* is mediated through multiple pathways // *BMC Complement. Altern. Med.* – 2011. – Vol.11, 96.

179 Pezzani R., Vitalini S., Iriti M. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: An update // *Phytochem. Rev.* – 2017. – Vol. 16. – P. 1253–1268.

180 Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils // *Current Pharmaceutical Design*. -2008. – Vol. 14(29). – P. 3106-3119.

181 Sikander M., Malik S., Parveen K., Ahmad M., Yadav D., Hafeez Z.B., Bansal M. Hepatoprotective effect of *Origanum vulgare* in Wistar rats against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity // *Protoplasma*. – 2013. – Vol. 250(2). – P. 483-493.

182 Adam K., Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticose* essential oils against human pathogenic fungi // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 1998. – Vol. 46(5). - P:1739-1745.

183 Martínez G.N. Oregano. Properties, uses and health benefits // *New developments in medical research, plant science research and practices*. – 2019. – 334 p.

184 Kaurinovic B., Popovic M., Vlaisavljevic S., Trivic S. Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts // *Molecules*. – 2011. – Vol. 16(9). –P. 401- 414.

185 Sikander M., Malik S., Parveen K., et al. Hepatoprotective effect of *Origanum vulgare* in Wistar rats against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity // *Protoplasma*. -2013. – Vol. 250(2). –P. 483-493.

186 Hossain F., Follett P., Dang Vu K., Harich M., Salmieri S., Lacroix M. Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food // *Food Microbiol*. – 2016. – P. 24-30.

187 Kosakowska O., Węglarz Z., Pióro-Jabrucka E., et al. Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and Common Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*) // *Molecules*. – 2021. –Vol. 26(4):988.

188 Chishti Shayista, Sultan Phalestine, et all. Antibacterial activity and DPPH scavenging antioxidant potential in *Origanum vulgare* L. // *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. - 2014. – P. 15-21.

189 Berrington D, Lall N. Anticancer Activity of Certain Herbs and Spices on the Cervical Epithelial Carcinoma (HeLa) Cell Line // *Evid Based Complement Alternat Med*. – 2012. – Vol. 2.

190 Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов // Учебное пособие для ВУЗов. — М.: ГЭОТАР-Мед. - 2004. — 560 с.: ил.

191 Атаева А.К., Атажанова Г.А., Бадекова К.Ж., Ивасенко С.А., Марченко А.Б., Лосева И.В. Оценка качества эфирных масел с помощью анализа ГХ-МС // *Медицина и экология*. - 2020. -№1. - С.64-77.

192 Бадекова К.Ж., Ахметова С.Б. Антимикробная активность эфирных масел растений, произрастающих в Казахстане // *Фармация Казахстана*. - 2020. - №1. - С.15-18.

193 Akhmetova S., Badekova K., Atazhanova G., Levaya Y., Kacergius T., Smagulov M. Anti-inflammatory activity of a dental gel based on *Origanum vulgare*

raw material // Bulletin of Karaganda University, series of biology, medicine, geography. - 2021. – Vol. 4. –P. 91-95.

194 Байтулин И.О., Мырзагалиева А.Б., Медеубаева Б.З. Запасы сырья эфирномасличных растений семейства яснотковые Казахстана Алтай // Вестник Национальной академии наук Республики Казахстан. – 2013. - С. 24-29.

195 Флора Казахстана. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1958. Т. 3. – 450 с.

196 Фото душицы обыкновенной <https://horosho-zhivem.ru/dushitsa/> 16.09.2021

197 Вехов В.Н., Лотова Л.И., Филин В.Р. Практикум по анатомии и морфологии высших растений. – М.: МГУ, 1980. – 560 с.

198 Лотова Л.И. Ботаника: Морфология и анатомия высших растений. – М.: КомКнига, 2007. – 512 с.

199 Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats // P & T: a peer-reviewed journal for formulary management. - 2015. - Vol. 40(4). – P. 277–283.

200 Nabavi S.F., Di Lorenzo A., Izadi M., Sobarzo-Sánchez E., Daglia M., Nabavi S.M. Antibacterial Effects of Cinnamon: From Farm to Food, Cosmetic and Pharmaceutical Industries // Nutrients – 2015. - Vol. 7(9). – P. 7729-7748.

201 Halim A.F., Mashaly M.M., Zaghloul A.M., Abdel-Fattah H., De Potter H.L. Chemical constituents of the essential oils of *Origanum syriacum* and *Stachys aegyptiaca* // Intern J Pharma. – 1991. - Vol. 29. – P. 1–5.

202 Shafaghat A. Antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oils from flower, leaf and stem of *Origanum vulgare* ssp. *viride* growing wild in north-west Iran // Nat Prod Commun. – 2011. - Vol. 6. – P.1351–1352.

203 Béjaoui A., Chaabane H., Jemli M., Boulila A., Boussaid M. Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at different phenological stages // J Med Food. – 2013. - Vol. 16(12). – P. 1115-1120.

204 Polyphenols - Global Market Trajectory & Analytics // Global Industry Analysts Report -2021. www.researchandmarkets.com/reports 15.04.2021

205 <https://kaznmu.kz/rus/wp-content/uploads/2018/06/Диссертация-Маматовой-А.С.-07.06.2018.pdf> 15.04.2021

206 Атажанова Г.А., Бадеева К.Ж. https://www.ncste.kz/assets/report_files/2021/AP09562096-OT-21/ru_66161_1179872_1635432188.doc 15.04.2021

207 Badekova K.Zh., Atazhanova G.A., Kacergius T., Akhmetova S.B., Smagulov M.K. Composition and screening for antimicrobial activity of a dental gel samples based on *Origanum vulgare* L. // Journal of Taibah University Medical Sciences – 2021. – Vol. 16, No 5. – P. 712-718

208 Tokmakova S.I., Lunitsyna Yu.V., Kiyashchenko Yu.V., Kozlova K.S., Barg E.V. Comparative assessment of the antimicrobial activity of dental gels // Dentistry problems. – 2014. - Vol. 1.

209 Iscan, Gokalp (2017). Antibacterial and Anticandidal Activities of Common Essential Oil Constituents. Records of Natural Products, 11, 374-388.

- 210 Nabavi SF, Di Lorenzo A, Izadi M, Sobarzo-Sánchez E, Daglia M, Nabavi SM (2015). Antibacterial Effects of Cinnamon: From Farm to Food, Cosmetic and Pharmaceutical Industries. *Nutrients*, 7(9):7729-7748. doi: 10.3390/nu7095359.
- 211 Edogbanya P.R., Suleiman M.O., Olorunmola J.B., Oijagbe I.J. Comparative study on the antimicrobial effects of essential oils from peels of three citrus fruits // *MOJ Biol Med.* - 2019. - Vol. 4. – P. 49-54.
- 212 Kim J., Marshall M. R., and Wei C.-I. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 1995. - Vol. 43, no. 11. - P. 2841–2845.
- 213 Marino M., Bersani C., Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae // *International Journal of Food Microbiology* 67. – 2001. – P. 187-195.
- 214 Olmedo R., Nepote V., Grosso N. Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation // *Food Chem.* – 2014. - Vol. 156. – P. 212–219.
- 215 Oniga I., Puscas C., Silaghi-Dumitrescu R., Olah N., Sevastre B., Marica R., Marcus I., Sevastre-Berghian A.C., Benedec D., Pop C.E., et al. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical composition and biological studies // *Molecules.* – 2018. - Vol. 23. - P. 17-23.
- 216 Oke F., Aslim B., Ozturk S., Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten // *Food Chemistry* – 2009. - Vol. 112. – P. 874-879.
- 217 Yap P.S.X., Yiap B.C., Ping H.C., Lim S.H.E. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance // *Open Microbiology Journal.* – 2014. - Vol. 8. - P. 10–14.
- 218 Demirci B., Köse Y., Iscan G. Antimicrobial essential oil of *Origanum boissieri* Ietswaart // *Journal of Research in Pharmacy.* – 2020. - Vol. 24. – P. 233-239.
- 219 Soni S., Soni U.N. In-vitro antibacterial and antifungal activity of selected essential oils // *Int J Pharm Sci.* - 2014. - Vol. 6. – P. 586-596.
- 220 Afridi M.S, Ali J., Abbas S, Rehman S.U., Khan F.A, Khan M.A., Shahid M. Essential oil composition of *Mentha Piperita* L. And its antimicrobial effects against common human pathogenic bacterial and fungal strains // *Pharmacologyonline.* – 2016. – Vol. 3. – P. 90- 97.
- 221 Mirza B., Samiei S.S., Taherkhani M., Fathizadeh M. Composition of the Essential Oils of *Anthemis hyalina* DC., *Achillea nobilis* L. and *Cichorium intybus* L. Three Asteraceae Herbs Growing Wild in Iran // *Asian Journal of Chemistry.* - 2012. - Vol. 24. – P. 1151-1154.
- 222 Yousefzadi M., Sonboli A., Karimic F., Ebrahimi S. N., Asghari B., Zeinalia A. Antimicrobial activity of some *Salvia* species essential oils from Iran // *Z. Naturforsch.* - 2007. - Vol. 7-8. – P. 514-518.
- 223 Adams R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. - Allured Publishing, Carol Stream, 2001.- 804 p.

- 224 Kovalenko N., Ahramovich T., Supichenko G., Sachivko T., Bosak V. Antibacterial activity of Hyssopus officinalis essential oils // Chemistry of plant raw material. - 2018. – P. 191-199.
- 225 Ultee A., Bennik M., Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus // Appl Environ Microbiol. – 2002. - Vol. 68(4):1561-8.
- 226 Derwich E., Chabir R., Taouil R., Senhaji O. In vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of Mentha piperita (Lamiaceae) from Morocco // Int J Pharm Sci Drug Res. – 2011. - Vol. 3(2):130-6.
- 227 Yadegarinia D., Gachkar L., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A., Rasooli I. Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils // Phytochemistry. – 2006. - Vol. 67(12):1249-55
- 228 Allahverdiyev A., Duran N., Ozguven M., Koltas S. Antiviral activity of the volatile oils of Melissa officinalis L. against Herpes simplex virus type-2. // Phytomedicine. - 2004. - Vol. 11. – P. 657-661.
- 229 Badekova K.Zh., Zholdasbaev M.E., Atazhanova G.A., Akhmetova S.A., Smagulov M.K. The study of antimicrobial and antifungal activity of extracts Origanum vulgare L. // Соврем. тенденции развития тех. здоров. сбор. науч. труд. меж. науч. конф. – Москва, 2020. – С. 379-384.
- 230 Kozłowska M., Laudy A., Przybył J., Ziarno M., Majewska E. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family // Acta poloniae pharmaceutica. - 2015. - Vol. 72. – P. 757-767.
- 231 Vu T.T., Kim H., Tran V.K., et al. In vitro antibacterial activity of selected medicinal plants traditionally used in Vietnam against human pathogenic bacteria // BMC Complementary and Alternative Medicine. - 2016. - Vol. 16, 32.
- 232 Sharma A., Flores-Vallejo R.D.C., Cardoso-Taketa A., Villarreal M.L. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine // Journal of Ethnopharmacology. - 2017. - Vol. 208. – P. 264-329.
- 233 Brđjanin S., Bogdanović N., Kolundžić M., Milenković M., Golić N., Kojić M., Kundaković T. Antimicrobial activity of oregano (Origanum vulgare L.) and basil (Ocimum basilicum L.) extracts // Adv. Technol. - 2015. - Vol. 4. – P. 5–10.
- 234 Oniga I., Puşcaş C., Silaghi-Dumitrescu R., et al. Origanum vulgare ssp. vulgare: Chemical Composition and Biological Studies // Molecules. -2018. - Vol. 23(8), 2077.
- 235 Assaf A.M., Amro B.I., Mashallah S., Haddadin R.N. Antimicrobial and anti-inflammatory potential therapy for opportunistic microorganisms // The Journal of Infection in Developing Countries. - 2016. - Vol. 10(5), 494.
- 236 Bueno J., Demirci, F., Husnu Can Baser K. Essential oils against microbial resistance mechanisms, challenges and applications in drug discovery // Essential oils and nanotechnology for treatment of microbial diseases. - 2017. – P. 143-158.
- 237 Devi S., Raj B., Basava V., Bharath S., Raja D., Madhavan V. Antimicrobial studies of extended release amoxicillin trihydrate dental gels // Der Pharmacia Lettre. – 2012. - Vol. 4. – P. 275-286.

238 van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology // Journal of dental research. - Vol. 73(3). – P. 672–681.

ПРИЛОЖЕНИЯ
ПРИЛОЖЕНИЕА

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**

№ 35343

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION

 (21) 2020/0515.1

(22) 30.07.2020

(45) 05.11.2021

(54) Микробқа қарсы стоматологиялық гель
Антимикробный стоматологический гель
Antimicrobial dental gel

(73) «Қарағанды медицина университеті» коммерциялық емес акционерлік қоғамы (KZ)
Некоммерческое акционерное общество «Медицинский университет Караганды» (KZ)
Non-commercial Joint Stock Company «Karaganda Medical University» (KZ)

(72) Бадекова Каракоз Жаңловна (KZ) Badekova Karakoz Zhailovna (KZ)
Атажанова Гаянә Абдулкахимовна (KZ) Atazhanova Gayane Abdulkakhimovna (KZ)
Ивасенко Светлана Александровна (KZ) Ivassenko Svetlana Alexandrovna (KZ)
Ахметова Сауле Балтабаевна (KZ) Akhmetova Saule Baltabayevna (KZ)
Лосева Ирина Викторовна (KZ) Losseva Irina Viktorovna (KZ)
Айткенова Айлаззат Айткеновна (KZ) Aitkenova Ailazzat Aitkenovna (KZ)

 ЭЦК қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Қуантыров
Е. Куантыров
Y. Kuantyrov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по стратегическому
развитию и науке НАО «МУК»,
д.м.н.,  А.А. Турмухамбетова
2021 г.

ПРИКАЗ

ЭКСПЕРТИЗА ПРОВЕДЕНА

РГП на ПХВ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств,
изделий медицинского назначения и
медицинской техники» МЗ РК

Комитета контроля медицинской и
фармацевтической деятельности МЗ РК
от «___» _____ 202 г.
№ _____

«___» _____ 202 г.

АНАЛИТИЧЕСКИЙ НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственного средства

Oregano essential oil gel, gel 5 %

Орегано эфир майы гелі, 5 %

Гель с эфирным маслом душицы, гель 5 %

Наименование и страна организации-производителя

НАО «Медицинский университет Караганды», Республика Казахстан.

Наименование и страна владельца регистрационного удостоверения

НАО «Медицинский университет Караганды», Республика Казахстан.

Наименование и страна организации – упаковщика

НАО «Медицинский университет Караганды», Республика Казахстан.

Область применения – распространяется на опытную партию для
доклинических и клинических исследований

ВАНД РК -42

Срок введения установлен с
«___» _____ 20 г.

Вводится впервые

Срок действия до
«___» _____ 20 г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ЗАПРЕЩЕНА

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Для служебного пользования. Экз. № 150



УТВЕРЖДАЮ
Председатель Правления – Ректор
НАО «Медицинский университет Караганды»
А.А. Турмухамбетова
«24» марта 2024г.

ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ НА ПРОИЗВОДСТВО СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Срок действия регламента до «24» марта 2024 г.

СОГЛАСОВАНО

Декан школы фармация

к.б.н., доцент

И.В. Лосева

«23» марта 2024г.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству
НАО «Медицинского Университета Караганды»
д.м.н., *А.А. Турмухамбетова*

А.А. Турмухамбетова

«25» 02 2021г.

АКТ

Результатов выполненных работ по изучению острой токсичности на базе
Вивария НАО «МУК»

Объекты исследования: стоматологический гель «ПКГЗ».

Цель работы – изучение острой токсичности стоматологического геля «ПКГЗ».

Материалы и методы

Исследования острой токсичности проводили на белых аутбредных мышцах и крысах самцах и самках массой 23-36 г. и 160-250 г, соответственно. Все животные были разделены на четыре группы по пять голов в каждой. Животные прошли акклиматизацию в условиях комнаты для проведения испытаний в течение 14 суток. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе свободном доступе к воде и пище.

Для изучения острой токсичности (лекарственная форма - гель) препарат «ПКГЗ» вводили экспериментальным животным внутривентрикулярно с помощью специального зонда. Однократно животные получали физиологически допустимый объем препарата. Для исследования острой токсичности были выбраны дозы 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 2000 мг/кг, как рекомендованные к исследованию. Каждую дозу соединения вводили экспериментальным животным, разделенным по 4 группам (по 5 крыс и 5 мышей обоего пола) из расчёта на массу тела. Группа А получали гель дозировкой 500 мг/кг, группа В получали гель дозировкой 1000 мг/кг, группа С получали гель дозировкой 2000 мг/кг, группа Д (контрольная) получали дистиллированную воду в объеме 1 мл. Рассчитанную дозу необходимую для введения растворяли в воде объемом для мышей 0,2 мл, для крыс 0,5 мл. Животных взвешивали при формировании групп, перед введением исследуемого геля, а также на 1, 5, 10 и 14 сутки после введения геля. Перед и после введения вещества животные не получали пищу в течение 2-3 часов. Наблюдение за животными проводили в течение 14 суток. Дизайн исследования представлен в таблице 1.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

УТВЕРЖДАЮ
Декан школы фармация
к.б.н., доцент
 И.В. Лосева
« 02 » апреля 2021 г.

АКТ о внедрении фрагмента научно – исследовательской работы Бадековой К.Ж.

Тема: «Разработка технологии противомикробного и противокариесного средства с эфирным маслом душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*)»

Наименование предложения для внедрения: «Технологический процесс получения экстрактов душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) ультразвуковым методом» по теме диссертации: «Разработка технологии противомикробного и противокариесного средства с эфирным маслом душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*)»

Учреждение, автор: НАО «Карагандинский медицинский университет», школа фармации, PhD докторант по специальности 6D074800 – «Технология фармацевтического производства» Бадекова К.Ж.

Где внедрено: Школа фармации

Форма внедрения: Технологический процесс получения экстрактов Душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) ультразвуковым методом.

Эффективность внедрения: внедрение способа получения водного и этанольного экстрактов из надземной части растительного сырья Душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*)

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: Нет

Исполнитель:



Бадекова К.Ж.

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

СПРАВКА

Дана Бадеевой Каракол Жанловне о том, что собранное сырье в окрестностях г. Щучинск Бурабайского района Акмолинской области (52°56' с. ш. 70°12' в.д.) в июне – июле 2019 года является душицей обыкновенной - *Ostranum vulgare* L., семейства *Lamiaceae*.

Идентификация сырья выполнена на основе морфологического анализа гербарных экземпляров и измельченного сырья.

Зав.кафедрой ботаники

НАО «Карагандинский университет

имени академика Е.А. Букетова»,

канд.бхол.наук, ассоц.профессор



С.У. Тлеукенова

Профессор-исследователь кафедры

ботаники НАО «Карагандинский университет

имени академика Е.А. Букетова», к.б.н., проф.

канд.бхол.наук, ассоц.профессор



М.Ю. Ишмуратова

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

СПРАВКА

Дана Бадековой Каракоз Жайлауовне о том, что собранное сырье в окрестностях г. Риддер (Восточно-Казахстанская область, GPS-координаты: 50, 3441 с.ш., 83,5129 в.д.) в июне- июле 2021 года является душицей обыкновенной – *Origanum vulgare* L., семейства *Lamiaceae*.

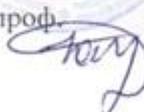
Идентификация сырья выполнена на основе морфологического анализа гербарных экземпляров и измельченного сырья.

Зав.кафедрой ботаники
НАО «Карагандинский университет
имени академика Е.А. Букетова»,
канд.биол.наук, ассоц.профессор



С.У. Тлеукунова

Профессор-исследователь кафедры
ботаники НАО «Карагандинский университет
имени академика Е.А. Букетова», к.б.н., проф.
канд.биол.наук, ассоц.профессор



М.Ю. Ишмуратова

ПРИЛОЖЕНИЕ К

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по стратегическому
развитию и науке НАО «МУК»
д.м.н.,  А.А. Гурмухамбетова
2021г.



АКТ по разработке показателей качества и стандартизации стоматологического геля

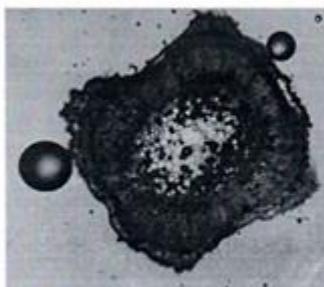
Мы, нижеподписавшиеся комиссия: в составе профессора-исследователя Школы фармации, д.х.н., профессора Г.А. Атажановой, научного сотрудника К.Ж. Бадековой составили настоящий акт о том, что в разработаны показатели качества и по стандартизации

- лекарственного сырья душицы обыкновенной;
- по стандартизации лекарственной субстанции
- по стандартизации лекарственного средства

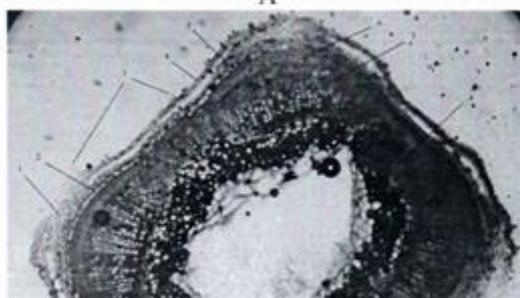
1.Анатомическое строение душицы обыкновенной.

Поперечный срез стебля.

Стебель душицы обыкновенной на поперечном срезе 4-угольный, с хорошо выраженными ребрами, центральная часть полая, особенно в нижней части стебля, в верхней части – сохраняются участки сердцевинной паренхимы (рис. 1).



А



Б

1 – колленхима, 2 – эндодерма, 3 – трихомы, 4 – эпидермис, 5 – хлоренхима, 6 – флоэма, 7 – ксилема, 8 – остатки сердцевинной паренхимы; А – общий вид поперечного среза верхней части стебля, Б – фрагмент поперечного среза средней и нижней части стебля

Рисунок 1 – Поперечный срез стебля *Origanum vulgare*. Ув. 4x16; 10x16

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству
НАО «Медицинского Университета Караганды»
д.м.н.,  А.А. Турмухамбетова
«16»  20 22 г.

АКТ

Результатов выполненных работ в учебной микробиологической лаборатории по испытанию на антибактериальную, противогрибковую активности на базе кафедры клинической иммунологии, аллергологии и микробиологии НАО «Медицинского Университета Караганды»

Объекты исследования: водные, водно-спиртовые экстракты традиционной, ультразвуковой экстракции растительного сырья *Origanum vulgare* L. (душица обыкновенная).

Цель работы: изучить антибактериальную и противогрибковую активности водных, водно-спиртовых экстрактов традиционной, ультразвуковой экстракции растительного сырья *Origanum vulgare* L.

Материалы и методы исследований:

Определение антибактериальной и противогрибковой активности испытуемых образцов проводилось с использованием метода диффузии в агар с тест-культурами: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 10231.

Стандартами антибактериальной активности выбраны антибиотики бензилпенициллина натриевая соль, противогрибковой активности – нистатин.

Водные, водно-спиртовые экстракты душицы обыкновенной были растворены в стерильной дистиллированной воде, 30%, 50%, 70%, 90% этиловом спирте.

Изучение антимикробной и антигрибковой активности полученных экстрактов душицы обыкновенной проводилось диско-диффузионным методом.

Изучение антимикробной активности вышеуказанных образцов проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli*, и к дрожжевому грибку *Candida albicans* диско-диффузионным методом. Препараты сравнения – бензилпенициллин для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*.

Для проведения исследования готовили взвесь, содержащую стандартное количество жизнеспособных клеток бактерий, которую засеивали газоном на поверхность питательной среды в чашки Петри. В качестве питательных сред для бактерий *Staphylococcus aureus* использовали - Чистович, для *Bacillus subtilis* питательный Агар, *Escherichia coli* - Эндо, и для дрожжевого грибка *Candida albicans* - Сабуро. На стерильные диски из фильтровальной бумаги наносили

ПРИЛОЖЕНИЕ М



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству

НАО «Медицинского Университета Караганды»

д.м.н.,  А.А. Турмухамбетова

«5» марта 2020г.

АКТ

Результатов выполненных работ в учебной микробиологической лаборатории по испытанию на антимикробную активность на базе кафедры клинической иммунологии, аллергологии и микробиологии
НАО «Медицинского Университета Караганды»

Наименование проведенных работ:

Испытания на антимикробную активность 5 образцов противокариесного геля (паспорт прилагается)

1. ПКГ1
2. ПКГ2
3. ПКГ3
4. ПКГ4
5. ПКГ5

Цель проведенных работ:

Изучение антимикробной активности 5 образцов противокариесного геля по отношению к тест-культурам *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Ps. aeruginosa*, *Candida albicans*.

Задачи исследования:

1. Оценка антибактериального действия 5 образцов противокариесного геля по отношению к тест-культурам *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Ps. aeruginosa*, *Candida albicans*.

Методы, которые использовались при проведении исследования:

1. Диско-диффузный метод

Изучение антимикробной активности 5 образцов противокариесного геля проводили диско-диффузионным методом.

Изучение антимикробной активности вышеуказанных образцов проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli*, *Ps. aeruginosa* и к дрожжевому грибку *Candida albicans* диско-диффузионным методом. Препараты сравнения – бензилпенициллин, для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*.

ПРИЛОЖЕНИЕ Н

Decision of the Committee on Bioethics
Karaganda State Medical University

Session No. 6
Protocol No. 5

Date (D/M/Y) 29.10.2018
Assigned number No. 7

Protocol title: «Development of technology for antimicrobial and anti-caries agent with organo essential oils»					
Main researcher:		Badekova Karakoz			
Institute		Karaganda State Medical University			
Considered elements		<input checked="" type="checkbox"/> Applied <input type="checkbox"/> Not applied			
Reconsideration <input type="checkbox"/> Yes <input checked="" type="checkbox"/> No		Date of the previous consideration			
Decision:		<input checked="" type="checkbox"/> Permission granted (PG) <input type="checkbox"/> Permission with recommendations (PR) <input type="checkbox"/> Re-bid (RB) <input type="checkbox"/> Refuse permission (RP)			
№	Voting of the CB members	Decision			
		PG	PR	RB	RP
1	Molotov-Lucharskiy V.B.	✓			
2	Mucievskaya L.L.	✓			
3	Kanaysh Zh.M.	✓			
4	Aazova M.H.	✓			
5	Badyrov B.M.	✓			
6	Bakirova R.E.	✓			
7	Betner E.C.	✓			
8	Blok O.G.	✓			
9	Vistymichan O.A.	✓			
10	Kakeva Sh.S.	✓			
11	Kaspidi D.I.	✓			
12	Omarkulov B.K.				
13	Ponamareva O.A.	✓			
14	Sorokina M.A.	✓			
15	Tulentaeva S.T.	✓			
16	Nikiforova S.A.	✓			

Note: PG - Permission granted; PR - Permission with recommendations;
RB - Re-bid; RP - Refuse permission

Signature: _____

Vice-chairman: Molotov Lucharskiy V.B.,
Doctor of Medicine

Executive secretary: Kanaysh Zh.M.

Date: 29.10.2018



ПРИЛОЖЕНИЕ П

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству
НАО «Медицинского Университета Караганды»
д.м.н.,  **А.А. Турмухамбетова**
«25» 02 2021г.



АКТ

Результатов выполненных работ по изучению острой токсичности на базе Вивария НАО «МУК»

Объекты исследования: водно-спиртовой экстракт растительного сырья *Origanum vulgare* L. (душица обыкновенная).

Цель работы – изучение острой токсичности экстракта душицы обыкновенной.

Материалы и методы

Исследования острой токсичности проводили на белых аутбредных мышах и крысах самцах и самках массой 25-38 г. и 140-230 г, соответственно. Все животные были разделены на четыре группы по пять голов в каждой. Животные прошли акклиматизацию в условиях комнаты для проведения испытаний в течение 14 суток. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе свободном доступе к воде и пище.

Для изучения острой токсичности рассчитанную дозу необходимую для введения растворяли в воде объемом для мышей 0,2 мл, для крыс 0,5 мл и вводили экспериментальным животным внутривентрикулярно с помощью специального зонда. Однократно животные получали физиологически допустимый объем препарата. Для исследования острой токсичности были выбраны дозы 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 2000 мг/кг, как рекомендованные к исследованию. Каждую дозу соединения вводили экспериментальным животным, разделенным по 4 группам (по 5 крыс и 5 мышей обоего пола) из расчёта на массу тела. Группа А получали экстракт дозировкой 500 мг/кг, группа В получали экстракт дозировкой 1000 мг/кг, группа С получали экстракт дозировкой 2000 мг/кг, группа D (контрольная) получали дистиллированную воду в объеме 1 мл. Животных взвешивали при формировании групп, перед введением исследуемого экстракта, а также на 1, 5, 10 и 14 сутки после введения экстракта. Перед и после введения вещества животные не получали пищу в течение 2-3 часов. Наблюдение за животными проводили в течение 14 суток. Дизайн исследования представлен в таблице 1.