

Разработка геля цетрарии исландской для наружного применения

В.В. Фролова¹, Н.А. Криштанова¹, Е.А. Климкина², О.М. Тихомирова¹

¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет;
Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова;
Российская Федерация, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Фролова Валерия Владимировна – аспирант кафедры микробиологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (СПбГХФУ). Тел.: +7 (911) 152-37-23. E-mail: zhilyaeva.valeriya@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0003-0463-883X

Криштанова Надежда Александровна – доцент кафедры фармацевтической химии СПбГХФУ, кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (921) 393-31-23. E-mail: nadezhda.krishtanova@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0002-4761-2077

Климкина Екатерина Александровна – доцент кафедры фармации Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Тел.: +7 (921) 756-44-62. E-mail: ekaterina.klimkina@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0002-3391-7208

Тихомирова Ольга Михайловна – доцент кафедры микробиологии СПбГХФУ, кандидат биологических наук. Тел.: +7 (921) 746-88-45. E-mail: olga.tikhomirova@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0001-5210-8329

РЕЗЮМЕ

Введение. Проблема лечения больных с ранами и раневой инфекцией кожи продолжает оставаться актуальной. Разработка препаратов в форме гелей, содержащих биологически активные вещества из лекарственного растительного сырья, представляет интерес, поскольку ожидается его высокая эффективность, хорошая переносимость и отсутствие выраженного побочного действия. Перспективным объектом является цетрария исландская, содержащая в своем составе полисахариды и лишайниковые кислоты.

Цель исследования – разработка технологии геля на основе карбомера для наружного применения, содержащего биологически активные вещества слоевищ цетрарии исландской, и определение антимикробной активности полученного геля.

Материал и методы. Водорастворимые полисахариды из слоевищ цетрарии извлекали по методике Н.К. Кочеткова, лишайниковые кислоты – методом перколяции 70% этиловым спиртом. Гелевую основу получали путем добавления к воде очищенной карбопола и нейтрализующего агента – триэтаноламина при перемешивании.

Исследование микробиологической чистоты серий полученного геля проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» Государственной фармакопеи РФ XIV издания (ГФ РФ XIV). Антимикробную активность полученных гелей исследовали методом диффузии в агар в отношении 6 культур тест-микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* и *Aspergillus brasiliensis*.

Результаты. Из слоевищ цетрарии исландской получены водорастворимые полисахариды и лишайниковые кислоты. Определена совместимость гелевой основы с извлеченными веществами при различной концентрации карбопола. Полученный гель соответствует по микробиологической чистоте требованиям ГФ РФ XIV. Выявлена антимикробная активность геля в отношении штаммов *S.aureus*, *E.coli*, *C.albicans* и *A.brasiliensis*.

Заключение. Разработана технология геля, содержащего комплекс биологически активных веществ, выделенных из слоевищ цетрарии исландской. Установлено, что полученный гель проявляет *in vitro* ингибирующее действие в отношении ряда бактерий и грибов (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*).

Ключевые слова: цетрария исландская, *Cetraria islandica* (L.) Ach., полисахариды, лишайниковые кислоты, карбомеры, гель, антимикробная активность.

Для цитирования: Фролова В.В., Криштанова Н.А., Климкина Е.А., Тихомирова О.М. Разработка геля цетрарии исландской для наружного применения. Фармация, 2020; 69 (1): 28–32. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-01-05>

DESIGN OF ICELAND MOSS (*CETRARIA ISLANDICA*) GEL FOR TOPICAL USE

V.V. Frolova¹, N.A. Krishtanova¹, E.A. Klimkina², O.M. Tikhomirova¹

¹Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, 14, Prof. Popov St., Saint Petersburg 197376, Russian Federation

²S.M. Kirov Military Medical Academy, 6, Acad. Lebedev St., Saint Petersburg 194044, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Frolova Valeriya Vladimirovna – postgraduate student of the department of microbiology, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPbSChPhU) Tel.: +7 (911) 152-37-23. E-mail: zhilyaeva.valeriya@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0003-0463-883X

Krishtanova Nadezhda Alexandrovna – associate professor of the department of pharmaceutical chemistry, SPbSChPhU, PhD of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (921) 393-31-23. E-mail: nadezhda.krishtanova@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0002-4761-2077

Klimkina Ekaterina Alexandrovna – associate professor of the department of Pharmacy, Military medical academy of S.M. Kirov, PhD of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (921) 756-44-62. E-mail: ekaterina.klimkina@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0002-3391-7208

Tikhomirova Ol'ga Mihajlovna – associate professor of the department of Microbiology, SPbSChPhU, PhD of Biological Sciences. Tel.: +7 (921) 746-88-45. E-mail: olga.tikhomirova@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0001-5210-8329

SUMMARY

Introduction. The problem of treating patients with wounds and wound infection of the skin continues to be relevant. The design of agents as gels containing biologically active substances from medicinal plant raw materials is of interest since their high efficacy with good tolerance and no pronounced adverse effect is expected. Iceland moss (*Cetraria islandica*) that contains polysaccharides and lichenic acids is a promising object.

Objective: to develop a technology of a topical carbomer-based gel that contains biologically active substances from the Iceland moss thalli and to determine the antimicrobial activity of the gel obtained.

Material and methods. The investigators extracted water-soluble polysaccharides from the Iceland moss thalli according to the method by N.K. Kochetkov and lichenic acids by percolation using 70% ethanol. The gel base was obtained by the addition of purified carbopol and the neutralizing agent triethanolamine to water by stirring.

The microbiological purity of the series of the gel obtained was examined in accordance with the requirements of GPA 1.2.4.0002.18 «Microbiological purity» of the Russian Federation State Pharmacopoeia 14th edition (RF SP-14). The agar diffusion method was used to assess the antimicrobial activity of the gels obtained against 6 cultures of test microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, and *Aspergillus brasiliensis*.

Results. Water-soluble polysaccharides and lichenic acids were obtained from the Iceland moss thalli. The compatibility of the gel base with the extracted substances was determined at different concentrations of carbopol. The resulting gel meets the microbiological purity requirements of the RF SP-14. The gel was found to have antimicrobial activity against the strains of *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, and *A. brasiliensis*.

Conclusion. The technology of a gel containing a complex of biologically active substances isolated from the Iceland moss thalli was developed. The obtained gel was ascertained to exhibit *in vitro* inhibitory activity against a number of bacteria and fungi (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, and *A. brasiliensis*).

Key words: Iceland moss, *Cetraria islandica* (L.) Ach., polysaccharides, lichenic acids, carbomers, gel, antimicrobial activity.

For citation: Frolova V.V., Krishtanova N.A., Klimkina E.A., Tikhomirova O.M. Design of Iceland moss (*Cetraria islandica*) gel for topical use. *Farmatsiya* (Pharmacy), 2020; 69 (1): 28–32. <https://doi.org/10/29296/25419218-2020-01-05>

Введение

Одним из основных направлений развития современной фармацевтической промышленности является расширение ассортимента и поиск эффективных и безопасных лекарственных средств (ЛС), в том числе растительного происхождения. В настоящее время проблема лечения больных с ранами и раневой инфекцией кожи и мягких тканей остается актуальной [1, 2]. На современном фармацевтическом рынке имеются разнообразные препараты синтетического происхождения, оказывающие ранозаживляющее и противомикробное действие, в форме мази или крема. Однако создание препаратов, содержащих биологически активные вещества из лекарственного растительного сырья, в форме гелей представляет интерес в связи с их потенциальной высокой эффективностью, хоро-

шей переносимостью и отсутствием побочного действия [2, 3].

Перспективным объектом для разработки мягкой лекарственной формы с целью применения в дерматологической практике при лечении раневых и ожоговых инфекций является цетрария исландская (*Cetraria islandica* (L.) Ach.) из семейства пармелиевых (*Parmeliaceae* L.). За счет преобладания полисахаридов она оказывает противовоспалительный, ранозаживляющий, антиоксидантный, абсорбирующий эффекты. Лишайниковые кислоты, содержащиеся в слоевищах цетрарии исландской, обладают сильным антибактериальным действием [4–6].

Цель исследования – разработка технологии геля для наружного применения, содержащего биологически активные вещества (БАВ), извлеченные из слоевищ цетрарии исландской, на ос-

нове карбомера и определение антимикробной активности полученного геля.

Материал и методы

Слоевища цетрарии исландской (*Cetraria islandica* (L.) Ach.) были собраны в августе 2015 г. на территории Ленинградской области.

На 1-м этапе исследования из слоевищ цетрарии исландской извлекали водорастворимые полисахариды (по общей методике Н.К. Кочеткова) и лишайниковые кислоты (методом перколяции с помощью 70% этилового спирта).

Лекарственная форма гель была выбрана не случайно, так как при нанесении на кожу он образует тонкую пленку, защищающую от микробной контаминации и пролонгирующую действие лекарственных веществ, что очень важно при лечении ран [1, 2, 7]. Для получения гелевой основы к воде очищенной добавляли карбопол и нейтрализующий агент – триэтаноламин (ТЭА). При перемешивании смесь загустевала с образованием вязкого геля.

В ходе исследования изучали совместимость основы с полисахаридами и извлечением с лишайниковыми кислотами. Определение микробиологической чистоты серий полученного геля проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» ГФ РФ XIV [8]. Определяли общее количество аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов в 1 г, отсутствие *S. aureus* и *P. aeruginosa* в 1 г. Антимикробную активность полученных гелей изучали методом диффузии в агар [9] в отношении 6 культур тест-микроорганизмов, указанных в фармакопее: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* РКПГУ401 и *Aspergillus brasiliensis* ATCC 9642. Взвесь тест-микроорганизмов вносили в питательную сре-

ду из расчета 10^5 кл/мл. Диаметры зон угнетения роста тест-микроорганизмов измеряли с точностью до 0,1 мм.

Все эксперименты проводились в 5 повторностях. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы Biostat 6.1 с использованием критерия Стьюдента ($p=95\%$). При сравнении антимикробной активности гелей применяли критерий Ньюмена–Кейлса [10].

Результаты и обсуждение

При изучении совместимости гелевой основы с полисахаридами и извлечением с лишайниковыми кислотами было установлено, что введение полисахаридов в гелевую основу не влияет на структуру геля. А при введении извлечения, содержащего лишайниковые кислоты, требовалось увеличение концентрации карбопола для получения устойчивого стабильного геля.

В процессе хранения образцов гелей, в составе которых отсутствовали консерванты, уже через 6 сут на их поверхности наблюдались признаки роста микроорганизмов (прежде всего, мицелиальных грибов). Поэтому решено было включать в композицию геля консерванты. Для подавления жизнедеятельности микроорганизмов-контаминантов в состав геля ввели нипагин и нипазол, проявляющие антимикробное действие в отношении широкого спектра микроорганизмов-контаминантов (включая грибы) [7].

Для изучения влияния компонентов препарата на реологические свойства снимали реограмму геля на программируемом ротационном вискозиметре Brookfield RVDV-II+ (США) (система коаксиальных цилиндров). Реограмма показала, что гель обладает тиксотропными свойствами, то есть он способен восстанавливать свою структуру после разрушения системы.

Антимикробная активность гелевых композиций

Antimicrobial activity of gel compositions

Препарат	Диаметр зоны ингибирования роста тест-микроорганизма, мм					
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
Гель без консервантов	11,4±0,2	–	–	–	–	8,6±0,2
Гель с консервантами	11,8±0,1	–	8,7±0,3	–	11,7±0,1	19,1±0,3
Гель «Подорожник»	19,8±0,6	18,4±0,7	14,8±0,1	14,8±0,3	22,8±0,3	24,5±0,3

Примечание. Прочерк – активность не выявлена.

Note. Dash – no activity.

Результаты микробиологического контроля 3 серий геля показали, что гель разработанной нами композиции по микробиологической чистоте удовлетворяет требованиям ГФ РФ XIV к препаратам для наружного применения категории 2. Для всех исследованных серий установлено, что содержание аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов не превышает допустимых норм микробной контаминации, а условно-патогенные бактерии *P. aeruginosa* и *S. aureus* не выявлялись в 1 г геля.

Антимикробную активность полученных гелевых композиций исследовали методом диффузии в агар в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* и *B. subtilis*, грамотрицательных бактерий *E. coli* и *P. aeruginosa*, дрожжей *C. albicans* и мицелиального гриба *A. brasiliensis* (см. таблицу). В качестве препаратов сравнения были выбраны гели: «Подорожник» (производитель – ООО «Фитосила», Россия), в состав которого входят водно-спиртовые экстракты подорожника, иссопа, листьев и почек березы, коры дуба, масло черного перца и сосны, аллантоин; «Флоцета» (производитель – BELUPO, Республика Хорватия), содержащий экстракты ромашки аптечной и календулы лекарственной, ацетат-тартрат алюминия. Они оказывают противовоспалительное, ранозаживляющее, противомикробное действие.

Согласно полученным данным (см. таблицу), разработанный гель проявляет *in vitro* ингибирующее действие в отношении ряда бактерий и грибов (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*), хотя и несколько уступает по антимикробной активности многокомпонентному биогелю «Подорожник». Следует отметить, что в условиях испытания гель «Флоцета» не проявил антимикробной активности в отношении всех использованных в экспериментах штаммов тест-микроорганизмов. Консерванты, введенные в состав геля, потенцировали антимикробную активность его действующих компонентов, особенно в отношении *E. coli*, *C. albicans* и *A. brasiliensis*.

Таким образом, гель с извлечениями из слоевищ цетрарии исландской предложенного состава оказывает антимикробное действие. Введенные в его состав консерванты не только способствуют продлению срока хранения полученного препарата, препятствуя его биопорче, но и усиливают антимикробный эффект БАВ выделенного лишайника.

Заключение

Разработан состав геля с учетом содержания разнонаправленных БАВ слоевищ цетрарии исландской (водорастворимых полисахаридов и лишайниковых кислот).

Определена совместимость гелевой основы с выделенными БАВ при различной концентрации карбопола. Гель разработанной композиции отвечает требованиям ГФ РФ XIV по микробиологической чистоте к препаратам для наружного применения категории 2. В ходе оценки антимикробной активности полученного геля установлено, что он проявляет *in vitro* ингибирующее действие в отношении ряда бактерий и грибов (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Лагвилава Т.О., Зиновьев Е.В., Ивахнюк Г.К. и др. Ранозаживляющие средства на основе карбополов. Известия СПбГИ (ТУ). 2013; 18 (44): 47–52.
2. Просянникова Н.В., Липова Е.В., Покровский К.А. и др. Современные методы лечения длительно незаживающих ран кожи. Покровский Российский журнал кожных и венерических болезней. 2012; 6: 47–51.
3. Шишкина А.В., Багирова В.Л. Анализ отечественного фармацевтического рынка мягких лекарственных форм. Фармация, 2013; 1: 28–30.
4. Коберник А.А., Кравченко И.А., Набих М. Фармакотерапевтическая активность *Cetraria islandica*. Сборник тезисов научных работ участников международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные проблемы, пути решения и перспективы». 2013; 13–5.
5. Криштанова Н.А., Наркевич И.А., Болотова В.Ц. и др. Изучение фармакологической активности отдельных компонентов полисахаридного комплекса слоевищ цетрарии – *Cetraria islandica* (L.) Ach. Вестник Российской военной медицинской академии, 2006; 2 (16): 69–75.
6. Криштанова Н.А., Сафонова М.Ю., Болотова В.Ц. и др. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств. Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация, 2005; 1: 212–21.
7. Шустрова М.В., Гаврилова Н.А., Молдавер Б.Л. и др. Оценка эффективности 20% геля с серой на гидрофильной основе при саркоптозе и демодекозе собак. Ветеринарная практика, 2008; 1: 31–3.
8. Государственная фармакопея РФ XIV изд., том 1. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>

9. Balouiri M., Sadiki M., Koraichi S.I. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016; 6 (2): 71-79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005

10. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998; 459.

References

1. Lagvilava T., Zinov'ev E., Ivahnjuk G. et al. Wound-healing agent on the basis of carbopol. Izvestiya SPbGTI (TU), 2013; 18(44): 47-52 (in Russian).

2. Prosyannikova N., Lipova E., Pokrovsky K. et al. Modern methods of treatment of long-term non-healing skin wounds. Pokrovskij Rossiyskiy zhurnal kozhnyh i venericheskikh bolezney, 2012; 6: 47-51 (in Russian).

3. Shishkina A.V., Bagirova V.L. Analysis of the Russian pharmaceutical market of soft dosage forms. Farmatsiya, 2013; 1: 28-30 (in Russian).

4. Kobernik A.A., Kravchenko I.A., Nabih M. Pharmacotherapeutic activity of *Cetraria islandica*. Sbornik tezisov nauchnyh rabot uchastnikov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Sovremennaya medicina: aktual'nye problemy, puti resheniya i perspektivy», 2013; 13-5 (in Russian).

5. Krishtanova N.A., Narkevich I.A., Bolotova V.Ts. et al. Study of pharmacological activity of individual components of the polysaccharide complex of *Cetraria islandica* (L.) Ach. Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii, 2006; 2 (16): 69-75 (in Russian).

6. Krishtanova N.A., Safonova M.Yu., Bolotova V.Ts. et al. Prospects for the use of plant polysaccharides as therapeutic and prophylactic tools. Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya, 2005; 1: 212-21 (in Russian).

7. Shustrova M., Gavrilova N., Moldaver B. et al. The appreciation of the sulphurhydratable based gel efficacy in the dog sarcop-tosis and demodecosis. Veterinarnaya praktika. 2008;(1): 31-3 (in Russian).

8. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV-ed., Vol.1. [Electronic resource]. Access mode: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russian)

9. Balouiri M., Sadiki M., Koraichi S.I. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016; 6 (2): 71-79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005

10. Glanc S. Medical and biological statistics. Moscow: Praktika, 1998; 459 (in Russian).

<https://doi.org/10.29296/25877313-2019-01>

ISSN 1560-9596



Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии

Учредитель — Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР).

Журнал рекомендован Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Научно-практический журнал освещает новое в науках о жизни, включая метабомику, протеомику, разработки нанобиомедтехнологий живых систем;

- уделяет внимание разработкам современных биотест-систем на разных уровнях, используемых для контроля качества, оценки безопасности продуктов, мониторинга окружающей среды;
- знакомит с достижениями по совершенствованию биообъектов, используемых в качестве средств производства для создания перспективных лекарственных препаратов.

Подписаться можно с любого месяца

Подписной индекс по каталогу «Подписные издания» – П7985

Подписка на электронную версию журнала на сайте www.rusvrach.ru



ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ
«РУССКИЙ ВРАЧ»