

УДК 615.074

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ПИМЕНТЫ В КОМПЛЕКСНОЙ ГИГИЕНЕ ПОЛОСТИ РТА И РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ МАРКЕРНЫХ ВЕЩЕСТВ

А.А. Грознов, О.В. Нестерова, Е.А. Абизов, А.А. Матюшин, А.Н. Кузьменко,
В.А. Качулин*

(Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
*ООО «Дента-рус»; e-mail: alexagroznov@gmail.com).

Для изучения эффективности экстракта пименты в комплексной гигиене полости рта и разработки метода выявления маркерных веществ эфирного масла был проведен качественный анализ, позволяющий подтвердить подлинность компонентов, входящих в его состав.

Ключевые слова: пимента лекарственная, гингивит, хромато-масс-спектрометрия, пародонт.

По данным ВОЗ более 70% взрослого населения мегаполисов в большей или меньшей степени страдают воспалительными заболеваниями пародонта, что связано с неблагоприятной экологической обстановкой, высоким уровнем стресса, неправильным питанием, недостаточной гигиеной полости рта на фоне богатого ассортимента гигиенических средств, представленных на фармацевтическом рынке. Использование в терапии воспалительных заболеваний пародонта современных антибактериальных препаратов часто приводит к формированию резистентной микрофлоры, развитию аллергических реакций и подавлению естественной микрофлоры полости рта [1]. С учетом необходимости длительных курсов лечения актуальным остается поиск эффективных средств природного происхождения, способных обеспечить антимикробное, противовоспалительное и вяжущее действие, что позволит решить проблему недостаточной фармакотерапии при заболевании пародонта.

Расширение ассортимента лекарственного растительного сырья (ЛРС), обладающего высокой антимикробной, противогрибковой и противовоспалительной активностью, возможно за счет использования пищевого и пряно-масличного сырья, содержащего комплекс терпеноидных веществ и полифенольных соединений. К такому сырью, на наш взгляд, относятся плоды пименты лекарственной (ПЛ), которые, по данным зарубежных источников, показывают наличие высокой антимикробной и противогрибковой активности в отношении штаммов *Fusarium*

oxysporum, *Fusarium verticilloides*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Candida blanki*, *Candida tropicalis*, *Candida cylindracea*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* [8, 9].

Плоды ПЛ, реализуемые как пряно-масличное сырье под торговым наименованием «перец душистый», традиционно используются в качестве пищевой пряной приправы [4, 6]. Известно об их широком применении в народной медицине Юго-Восточной Азии, где они используются для лечения кишечных инфекций, бронхитов и при острой зубной боли [2; 5]. Однако анализ научной литературы и патентной документации показал отсутствие направленного изучения данного растительного сырья в целях введения его в номенклатуру лекарственных растительных средств.

Начальная стадия воспаления пародонта (гингивит) диагностируется более чем у половины населения РФ в возрасте до 35 лет (в старших возрастных группах показатели намного выше). Согласно литературным данным, улучшению состояния тканей пародонта способствует регулярное использование средств, содержащих экстракты лекарственных растений, обладающих противовоспалительным и антимикробным действием. Цель нашего исследования состояла в изучении влияния экстракта плодов ПЛ на уровень гигиены полости рта, состояние тканей пародонта и состав микрофлоры зубодесневой борозды у пациентов

с гингивитом, а также идентификации компонентов водно-спиртового экстракта и эфирного масла, в котором был использован метод, позволяющий подтвердить подлинность растительных компонентов: хромато-масс-спектрометрическое определение веществ-маркеров, присущих данному виду растительного сырья [3, 7, 13].

Экспериментальная часть

В исследовании эффективности экстракта плодов ПЛ (пищевое сырье, известное под торговым названием «*Душистый перец*») приняли участие 25 пациентов в возрасте 26–45 лет, предъявляющих жалобы на кровоточивость десен, проявляющуюся при использовании твердой пищи и при чистке зубов. Перед началом эксперимента все пациенты были проинструктированы по технике чистки зубов. Им было рекомендовано чистить зубы не менее 2 мин после каждого приема пищи, после чего в течение 1 мин ополаскивать полость рта раствором экстракта пименты лекарственной (20 капель на 100 мл воды). Для оценки эффективности исследуемого экстракта определяли следующие клинические и гигиенические параметры: гигиеническое состояние полости рта (с помощью индекса РНР), состояние тканей пародонта по критериям индекса гингивита GI и коммунального пародонтального индекса CPI, концентрацию пародонтопатогенных и резидентных видов бактерий в биопленке зубодесневой борозды (методом культурального бактериологического исследования с применением техники анаэробного культивирования) [11]. Контрольные осмотры пациентов проводили в начале исследования (через 3 и 6 недель). Статистическую обработку результатов исследования проводили по методу Стьюдента [10].

При исходном осмотре полости рта у 79% участников эксперимента уровень гигиены определен как неудовлетворительный. Так, в тканях пародонта у пациентов были отмечены воспалительные явления (отек десны, гиперемия, выраженная кровоточивость при зондировании), проявляющиеся в клинической картине катарального гингивита. Гингивит легкой, средней и тяжелой степени (в соответствии с индексом GI) обнаружен у 11, 57 и 32% пациентов. Через три недели выполнения назначенных гигиенических мероприятий отмечали достоверное снижение среднего показателя индекса гигиены, который на шестой неделе снизился на 54% по сравнению с исходным. Следует отметить, что в начале эксперимента резидентная микрофлора биопленки зубодесневой борозды характеризовалась умеренным количеством грампо-

ложительных микроаэрофильных и анаэробных стрептококков, энтерококков и коринебактерий, причем повышенное содержание *Streptococcus Sanguis* явно свидетельствовало о выраженном воспалении десны. По окончании гигиенических мероприятий наблюдалось возрастание концентрации и частоты выделения большинства резидентных видов бактерий, при этом концентрация *Streptococcus Sanguis*, участвующих в формировании процесса воспаления в пародонтальных тканях снизилось. Полученные нами результаты показывают, что активные компоненты экстракта ПЛ проявляют антибактериальные свойства в отношении пародонтопатогенов, но не нарушают нормальную микрофлору.

Пробоподготовка

Идентификацию компонентов эфирного масла пименты лекарственной и водно-спиртового экстракта проводили с помощью стандартов индивидуальных веществ («Merck», Германия).

Пробоподготовка включала получение эфирного масла из плодов ПЛ, измельченных до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, методом аквадистилляции и получение водно-спиртовых экстрактов из аналогичных измельченных плодов ПЛ с использованием в качестве экстрагента 95%-го этилового спирта при соотношении сырье:экстрагент = 1:10. Полученное эфирное масло представляет собой прозрачную жидкость чуть желтоватого цвета с пряно-эвгенольным запахом и жгучим вкусом.

Результаты и их обсуждение

Полученный экстракт представляет собой темно-коричневую жидкость горько-вяжущего вкуса, со специфическим запахом. Анализируемую фракцию экстрагировали из водно-спиртового экстракта диэтиловым эфиром. Экстракты, полученные нами в лабораторных условиях, использовали для определения содержания в них органических соединений. Анализ проводили на хроматомасс-спектрометре «Pegasus 4D» фирмы «LECO», США. Энергия ионизации составляла 70 эВ. В работе использовали капиллярную силиконовую колонку RTX-5MS (30 м), температурный режим: 50°C (2 мин), повышение температуры (20°C/мин), 300°C (10 мин). Сканируемые массы 29–500 Да. Для качественного определения использовали компьютерные библиотеки (NIST и WILEY).

На рис. 1 представлен общий вид хроматограммы компонентов водно-спиртового экс-

тракта плодов ПЛ и результат идентификации веществ терпеноидной природы в его составе (альфа-пинен, бета-пинен, лимонен, цимол, цинеол, линалоол, эвгенол, метилэвгенол, кариофиллен, изоэвгенол).

На рис. 2 представлен общий вид хроматограммы компонентов эфирного масла ПЛ и результат идентификации веществ терпеноидной природы в его составе (альфа-пинен, бета-пинен, цинеол, лимонен, линалоол, эвгенол).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено наличие антибактериального действия водно-спиртового экстракта пименты в отношении патогенных микроорганизмов пародонта и предложена методика определения подлинности анализируемой субстанции с использованием масс-спектрометрии, в результате чего обнаружено не менее 12 пиков среди которых достоверно подтверждено наличие 10 (альфа-пинен, бета-пинен, лимонен,

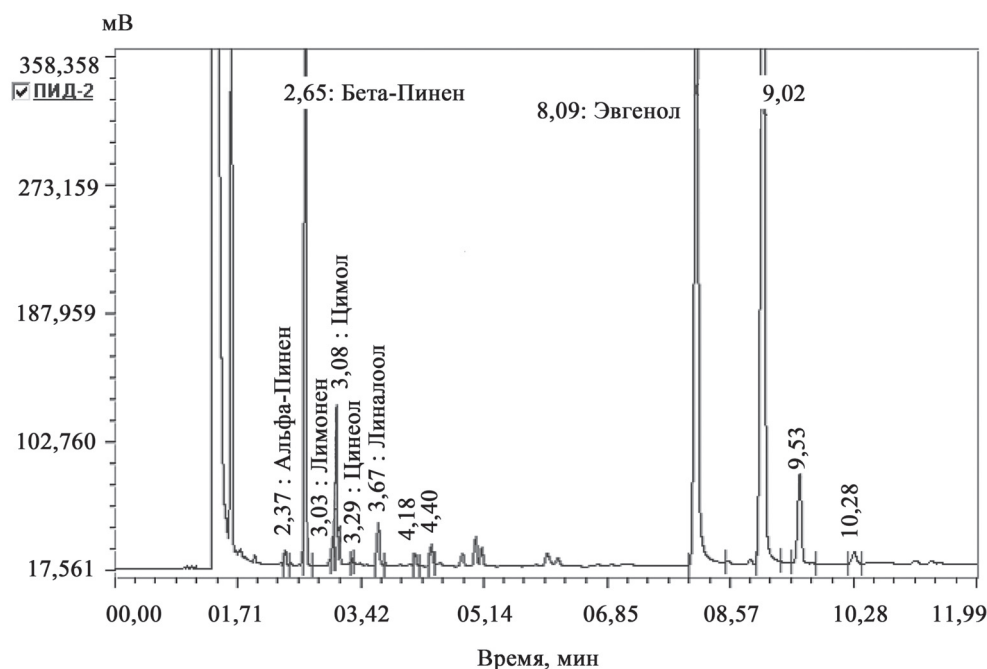


Рис. 1. Общий вид хроматограммы компонентов водно-спиртового экстракта плодов пименты лекарственной

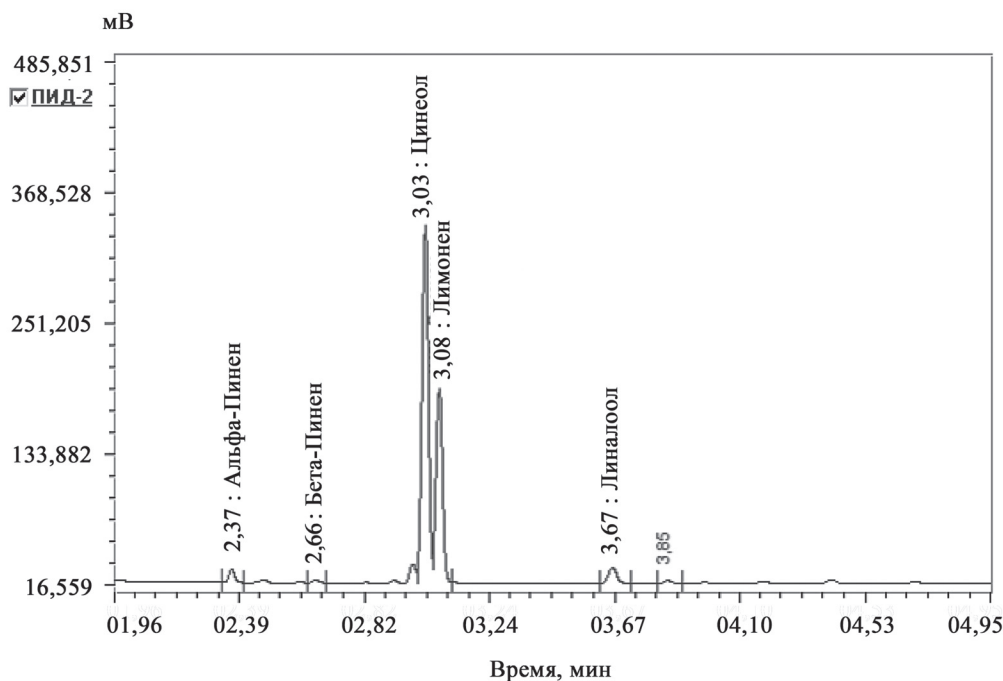


Рис. 2. Общий вид хроматограммы компонентов эфирного масла пименты лекарственной

цимол, цинеол, линалоол, эвгенол, метилэвгенол, кариофиллен, изоэвгенол). Масс-спектропрофиль экстракта ПЛ совпадает с таковым для эфирного масла пименты, изученного нами ранее [12], что позволяет использовать предло-

женную нами методику для введения в раздел «определение подлинности» разрабатываемой нами нормативной документации на субстанцию (водно-спиртовой экстракт) и комплексное лекарственное средство.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Почтаренко В.А. Дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. С. 120.
2. Самылина И.А., Сорокина А.А. Лекарственные растения тропиков и субтропиков (Справочное пособие). М., 1998. С. 5.
3. Опарин С.В. Стоматология XXI в. Пермь, 2001. С. 137.
4. Межгосударственный стандарт. Пряности. Перец душистый. Технические условия. ГОСТ 29045-91. М., С. 5.
5. Кузьменко А.Н., Решетняк В.Ю. Стандартизация лекарственного растительного сырья и растительных сборов хроматографическими методами. М., 2010.
6. Дудченко Л.Г., Козьяков А.С., Кривенком В.В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения. Справочник. Киев, 1989. С. 179.
7. Carvalho R.P. // Oral. Microbiol. Immunol. 2009. Vol. 24. N 2. P. 124.
8. Oussalah M., Caillet, S., Saucier L., Lacroix M. // Food control. 2007. Vol. 18. N 5. P. 414.
9. Rao S. K., Iyengar M.A., Rao G. // Indian Drugs. 2001. Vol. 38. N 9. P. 458.
10. Loe H. // J. Periodontal. 1967. Vol. 38. N 10. P. 610.
11. Loe H., Silness J. // Periodontal. 1963. Vol. 21. P. 533.
12. Грознов А.А., Нестерова О.В., Абизов Е.А., Матюшин А.А. // Естественные и технические науки. 2014. Vol. 9–10. N 77. С. 98.
13. Кузьменко А.Н., Пащикова Е.Б., Пирогов А.В., Разживин Р.В., Решетняк В.Ю. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2010. Т. 51. № 2. С. 132.

Поступила в редакцию 20.03.15

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF THE EXTRACT PIMENTA IN THE COMPLEX ORAL HEALTH AND DEVELOPING A METHOD OF DETECTION OF MARKER SUBSTANCES

A.A. Groznov, O.V. Nesterova, E.A. Abizov, A.A. Matyushin A.N. Kuzmenko, V.A. Kachulin

(I. M. Sechenov First Moscow State Medicine University, M.V. Lomonosov Moscow State University; * ООО «Denta-rus»)

To study the effectiveness of the extract of *Pimento officinalis* in the complex oral health and developed the method of identification of the marker substances of *Pimento officinalis* essential oil was carried out a qualitative analysis, which can confirm the authenticity of the components in its composition.

Key words: *Pimento officinalis*, gingivitis, chromatography-mass spectrometry, periodontal.

Сведения об авторах: Грознов Александр Александрович – аспирант кафедры общей химии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (alexagroznov@gmail.com); Нестерова Ольга Владимировна – профессор Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, докт. фарм. наук (olganestero@rambler.ru); Абизов Евгений Анатольевич – профессор Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, докт. фарм. наук (abizov963@yandex.ru); Матюшин Алексей Аркадьевич – доцент Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, канд. фарм. наук (Foralan79@mail.ru); Кузьменко Алексей Николаевич – профессор Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, докт. фарм. наук (kuzmenko.mma@mail.ru); Качулин Владимир Андреевич – хирург-стоматолог, ООО «Дента-рус» (Vak1001@mail.ru).