

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

СЖЕНОВА

Татьяна Михайловна

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЗУБНЫХ ПАСТ И
ОПОЛАСКИВАТЕЛЕЙ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук, профессор
Нестерова Ольга Владимировна

Москва – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	12
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Общие сведения о наиболее актуальных проблемах современной стоматологии	12
1.2. Роль биопленок в развитии воспалительных заболеваний пародонта.....	13
1.3. Методы контроля биопленок в полости рта	16
1.4. Роль фитопрофилактики в индивидуальной гигиене полости рта	20
1.5. Основные виды средств индивидуальной гигиены полости рта. Их преимущества и недостатки	21
1.5.1. Зубные пасты и ополаскиватели на основе природных антимикробных БАВ лекарственных растений.....	22
1.5.1.1. Воздействие на биопленки полости рта.....	23
1.5.1.2. Показатели клинической эффективности зубных паст на растительной основе и сравнение их антимикробного действия с аналогичным действием зубных паст на основе фтора, триклозана, хлоргексидина	24
1.5.1.3. Показатели безопасности: нежелательные реакции, применение у особой группы пациентов (детей)	25
1.5.1.4. Перспективные эфирномасличные растения с антибактериальной активностью, используемые в стоматологии	25
1.5.1.5. Анализ химического состава и механизма антибактериального действия эфирных масел, используемых в стоматологической практике	27
1.5.1.6. Характеристика индивидуальных биологически активных веществ эфирных масел и видов их взаимодействий	30
1.5.1.7. Современные методы анализа эфирных масел по показателям качества действующего вещества/веществ в нормативной документации	33
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	40
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	42
2.1. Объекты исследования	42
2.2. Материалы и методы.....	45
2.3. Методика пробоподготовки зубных паст, содержащих соединения терпеновой природы....	51
ГЛАВА 3. АНАЛИЗ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ЗУБНЫЕ ПАСТЫ И ОПОЛАСКИВАТЕЛИ	55
3.1. Изменения в отечественной документации понятийного аппарата СГПР.....	55

3.2.Показатели качества действующих веществ (лечебно-профилактических добавок) в отечественной и зарубежной нормативной документации на СГПР	57
3.3.Пограничное положение СГПР в системе здравоохранения	59
3.4.Разработка методического подхода к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС	62
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	65
ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГХ АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ДОБАВОК	66
4.1.Качественный ГХ анализ водно-спиртового экстракта листьев шалфея	66
4.2.Качественный анализ водно-спиртового экстракта цветков ромашки	70
4.2.1.ГХ анализ	70
4.2.2.ГХ-МС анализ.....	73
4.3.Качественный анализ эфирного масла герани	75
4.3.1.ГХ анализ	75
4.3.2.ГХ-МС анализ.....	78
4.3.3.Стандартизация по ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания.....	80
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	84
ГЛАВА 5. КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ СРЕДСТВ ГИГИЕНЫ ПОЛОСТИ РТА	86
5.1.Качественный анализ ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	86
5.2.Качественный анализ зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»... 88	
5.2.1.ГХ анализ	88
5.2.2.ГХ-МС анализ.....	89
5.3.Количественное определение гераниола в эфирном масле герани и средствах гигиены полости рта	91
5.3.1.ГХ анализ эфирного масла герани на ПИД методом внешнего стандарта	92
5.3.2.ГХ анализ ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»	94
5.3.3.Зубная паста «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	95
5.3.3.1.ГХ анализ на ПИД методом внешнего стандарта	95
5.3.3.2.ГХ-МС анализ методом внутреннего стандарта	97
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	101
ГЛАВА 6. Оценка стабильности образцов зубной пасты различных серий, содержащих эфирное масло герани	103

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	107
ГЛАВА 7. ВАЛИДАЦИЯ ГХ-МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕРАНИОЛА В ЗУБНОЙ ПАСТЕ «SPLAT (СПЛАТ) MEDICAL HERBS / ЛЕЧЕБНЫЕ ТРАВЫ»	108
7.1.Количественное определение гераниола в зубной пасте «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» серии 04/10/19	108
7.2.Валидация методики количественного определения гераниола	111
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7	121
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	123
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	127
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	142
ПРИЛОЖЕНИЕ	147

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В течение последних десяти лет российский рынок средств гигиены полости рта (СГПР) демонстрирует постоянный рост, в частности за счет расширения ассортимента зубных паст и ополаскивателей, содержащих растительные добавки в виде различного рода экстрактов, эфирных масел (ЭМ), индивидуальных биологически активных веществ (БАВ). Это объясняется их широким применением при профилактике кариеса, воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) и слизистой оболочки рта (СОР). Среди всех ВЗП особое место отводят наиболее легким формам, гингивиту и пародонтиту, которые отличаются широкой распространенностью и характеризуются обратимостью воспалительного процесса при соблюдении надлежащей индивидуальной гигиены полости рта. Среди всех антимикробных компонентов синтетического и природного происхождения свое широкое применение в качестве лечебно-профилактических добавок в составе СГПР получили ЭМ. Их преимущества включают в себя проявление бактериостатического и бактерицидного действия на биопленки полости рта, сравнимого по эффективности с хлоргексидином (ХГ) и триклозаном, но обеспечивающее лучший профиль безопасности СГПР на их основе.

Согласно техническому регламенту Таможенного союза (ТР ТС-009-2011) СГПР, содержащие лечебно-профилактические добавки, относятся к парфюмерно-косметической продукции профилактического действия, безопасность которых обеспечивается совокупностью обязательных для применения и исполнения требований к составу, к физико-химическим показателям и т.д. Эти показатели, правила и методы испытаний, необходимые для оценки соответствия продукции требованиям ТР ТС-009-2011, приведены в общих технических условиях межгосударственных и государственных стандартов (ГОСТ Р). Также в ТР ТС-009-2011 приведены списки веществ, в том числе индивидуальных БАВ синтетического происхождения, используемых с учетом указанных ограничений (или норм) в парфюмерно-косметической продукции. Однако в этом документе отсутствует информация об аналогичных БАВ эфирномасличного лекарственного растительного сырья (ЛРС) природного происхождения, вводимых в состав СГПР в виде ЭМ и других лечебно-профилактических добавок, а, следовательно, и методы испытаний на них. В этой связи введение в стандарты на зубные пасты и ополаскиватели новых физико-химических показателей, регламентирующих качество и содержание индивидуальных специфических БАВ ЭМ и лечебно-профилактических добавок на основе эфирномасличного ЛРС, а также разработанных методик испытаний на них является актуальной и своевременной задачей стандартизации парфюмерно-косметической продукции, которая позволит повысить безопасность данных СГПР профилактического назначения.

Степень разработанности темы исследования. В последние годы проблеме стандартизации ЛРС и продукции на его основе и/или на основе продуктов его переработки

уделяли пристальное внимание члены Совета Министерства здравоохранения Российской Федерации (РФ) по государственной фармакопее и разработчики общих фармакопейных статей (ОФС) (в частности ОФС 1.5.2.001.15 «Эфирные масла»). Изначально на базе кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова под руководством профессора, доктора фармацевтических наук, член-корреспондента РАН Самылиной И. А. была сформирована школа стандартизации ЛРС и лекарственных растительных препаратов (ЛРП). Но в последствии выбор объектов стандартизации расширился до многокомпонентных сборов, фитопрепаратов, биологически активных добавок (БАД) к пище, стоматологических средств и материалов, содержащих эвгенол (Шабалиной А.Э., 2008 г.), лечебно-профилактических препаратов стоматологического назначения, содержащих мексидол (Матюшин А.А., 2011 г.). Однако, стандартизацию СГПР на основе ЭМ и других лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС, а именно качественный и количественный анализы одного или нескольких специфичных для конкретного вида ЛРС веществ-маркеров в составе СГПР, ранее не проводили. Это делает актуальным разработку алгоритма действий по стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС с использованием метода газовой хроматографии.

Цель и задачи исследования. Целью исследования является разработка методического подхода к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС методом газовой хроматографии, а также его применение при качественном и количественном анализе зубной пасты и ополаскивателя, содержащих водно-спиртовые экстракты ромашки, шалфея и ЭМ герани.

Для достижения поставленной цели необходимо решение следующих **задач**:

1. Провести анализ действующей нормативной документации (НД) на СГПР и международных тенденций развития ее отдельных разделов;
2. Обосновать выбор современного метода контроля качества СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС;
3. Провести качественный анализ лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС, ополаскивателей и зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» и разработать методики идентификации репрезентативных компонентов этих добавок в составе указанных СГПР;
4. Обосновать лучший вид лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС для введения в состав СГПР;
5. Провести количественный анализ гераниола в ЭМ герани, ополаскивателях и зубных пастах «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» разных годов выпуска и разработать методику его количественного определения в составе ЭМ и указанных СГПР;

6. Изучить стабильность ЭМ герани в составе зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»;
7. Провести валидацию методики количественного определения гераниола в зубных пастах «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

Научная новизна. Впервые разработан алгоритм действий по стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС (ЭМ, их индивидуальных БАВ и экстрактов). На примере ополаскивателя для полости рта и зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» были изложены рекомендации по введению следующих новых физико-химических показателей качества и методик их определения в НД на перечисленные СГПР, содержащие водно-спиртовые/спиртовые экстракты цветков ромашки, листьев шалфея и ЭМ герани, а именно массовой доли гераниола и его определение; репрезентативных компонентов приведенных выше лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС и их идентификация. Впервые проведен анализ заявленных норм индивидуальных БАВ синтетического происхождения (цитронеллола и гераниола), приведенных в приложение 2 ТР ТС 009/2011, и даны рекомендации по введению указаний на аналогичные БАВ только природного происхождения, вводимых в состав СГПР в виде ЭМ, а также на другие специфические БАВ лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС (для экстрактов листьев шалфея – борнеол, борнилацетат и туйоны; для экстрактов цветков ромашки – фарнезен, бисаболол оксид А, α -бисаболол, для ЭМ герани – цитронеллол, гераниол, нераль и гераниаль). Полученные результаты могут быть использованы при совершенствовании требований ТР ТС -009-2011 к физико-химическим показателям СГПР и технических требований в межгосударственных и национальных стандартах. На основе современных физико-химических методов контроля качества, изложенных в соответствующих действующих стандартах разного уровня и фармакопейных статьях, впервые применен метод газовой хроматографии при стандартизации СГПР на основе ЭМ с целью качественной и количественной оценки ЭМ в их составе. Данный метод контроля качества СГПР предложен с учетом природы входящих лечебно-профилактических веществ (монотерпеноидов) и особенностей пробоподготовки такой формы как пасты и растворы. Впервые проведен сравнительный анализ качественного состава лечебно-профилактических добавок, используемых при производстве профилактических зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с целью идентификации специфических веществ-маркеров эфирномасличного ЛРС. По результатам анализа впервые проведено экспериментально-теоретическое обоснование целесообразности введения в состав СГПР ЭМ, а не водно-спиртовых экстрактов отдельных видов эфирномасличного ЛРС. Впервые проведен качественный анализ специфических веществ-маркеров лечебно-профилактических добавок ЛРС и количественный анализ гераниола в

профилактических зубных пастах и ополаскивателях для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» и ЭМ герани. В результате проведенного исследования разработаны методики идентификации репрезентативных компонентов лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», а также разработана методика количественного определения гераниола в аналогичных объектах исследования и проведена ее валидация. Впервые проведена оценка стабильности ЭМ герани в составе зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования. В менеджмент качества ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА» были подготовлены следующие материалы в виде проектов: 1) методики количественного определения гераниола в ополаскивателях, содержащих ЭМ герани (на примере ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»); 2) методики подтверждения качества ЭМ герани согласно требованиям и методикам ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания (на основе результатов исследований ЭМ герани, используемого при производстве профилактических зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»); 3) методик идентификации репрезентативных компонентов лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст и ополаскивателей для полости рта, содержащих водно-спиртовые экстракты цветков ромашки, листьев шалфея и ЭМ герани.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработанный методический подход к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС;
2. Разработанные методики идентификации репрезентативных компонентов лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».
3. Разработанные методики количественного определения гераниола в зубных пастах и ополаскивателях для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».
4. Результаты валидации ГХ-методики количественного определения гераниола в зубных пастах «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».
5. Результаты изучения стабильности зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».
6. Обоснование выбора ГХ анализа в качестве современного метода контроля качества СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС;
7. Обоснование целесообразности введения ЭМ в состав СГПР.

8. Обоснование необходимости введения в НД на СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС новых физико-химических показателей качества и методик их определения: массовая доля гераниола и его определение; репрезентативные компоненты лечебно-профилактических добавок (водно-спиртовых/спиртовых экстрактов цветков ромашки, листьев шалфея и ЭМ герани) и их идентификация.

Методология и методы исследования. Теоретическую основу исследования составила НД разного уровня в области регулирования рынка парфюмерно-косметической продукции и лекарственных средств: технический регламент Таможенного союза (ТР ТС-009-2011), международные (ISO), межгосударственные (ГОСТ ISO) и национальные (ГОСТ) стандарты, зарубежные и отечественная (ГФ XIII издания) фармакопеи. Методологическая основа исследования построена на применении специальных методов, к которым относятся качественный и количественный анализ состава СГПР на основе ЭМ при помощи метода газовой хроматографии (ГХ) и метода газовой хроматографии /масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Достоверность научных положений и выводов. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием данных действующих стандартов. Экспериментальные исследования проводились на современном сертифицированном оборудовании в достаточном числе повторностей. Достоверность полученных результатов доказана данными валидации используемой методики ГХ, а также статистической обработкой результатов исследования, проведенной с учетом указаний ОФС.1.1.0013.15 ГФ XIII «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Достоверность первичной документации подтверждена экспертной оценкой. Научные положения и выводы диссертации обосновано и логично вытекают из содержания диссертационной работы, базируются на достаточных результатах исследований. Они также полностью соответствуют поставленным целям и задачам, опираются на полученные результаты статистической обработки материала.

Апробация результатов исследования. Апробация работы проведена на заседании межкафедральной конференции кафедры фармакогнозии, фармацевтической химии и кафедры общей химии ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, 19.01.2017). Основные положения диссертации были доложены на XIX и XX Юбилейном Российском национальном конгрессе «ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО» (Москва, 2012г., 2013г.), научно-практических конференциях (с международным участием): «Актуальные вопросы науки, образования и производства в фармации» (Ташкент 2013г., 2015г.), «Интеграция образования, науки и производства в фармации» (Ташкент 2014г.).

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке задач, проведении экспериментальных исследований, теоретических

изысканий, анализе и обобщении полученных данных. В работах, выполненных в соавторстве, автором лично проведен мониторинг основных параметров, аналитическая и статистическая обработка полученных результатов, их научное обоснование и обобщение. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования: от постановки задач, их теоретической и практической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях, докладах и внедрения в практику.

Внедрение результатов исследования. Разработанная методика количественного определения гераниола в профилактических зубных пастах, содержащих ЭМ герани, методом газовой хроматографии была провалидирована и внедрена в менеджмент качества ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА» в виде методики контроля качества профилактических зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» в процессе производства. Результаты исследования были внедрены в учебный процесс ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (в настоящее время ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России): 1) кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний в рамках темы лекционного курса и практических занятий «Профилактика стоматологических заболеваний. Индивидуальные средства гигиены» календарно – тематического плана по курсу пропедевтическая стоматология, а также в рамках дисциплины по выбору «Эстетика в стоматологии»; 2) кафедры профилактики и коммунальной стоматологии в рамках чтения лекций и проведения семинаров со слушателями стоматологического факультета: клиническими интернами, ординаторами и студентами 2,3,4,5 курсов. Все перечисленные результаты диссертационной работы, кроме подготовленных проектов подтверждены актами внедрения.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3, 6 паспорта специальности фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтической науки. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова «Совершенствование образовательных технологий додипломного и последипломного медицинского и фармацевтического образования» (номер государственной регистрации 01201168237).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (глава 2, 3, 4, 5, 6, 7), общих выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка

литературы из 185 источника (125 из которых зарубежные), списка иллюстративного материала, приложения. В диссертации содержится 34 таблицы и 45 рисунков.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 3 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общие сведения о наиболее актуальных проблемах современной стоматологии

В отчете Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) отмечается, что понятия «здоровье» и «гигиена полости рта» являются неотъемлемой частью общего состояния здоровья и определяющим фактором качества жизни человека. Следовательно, поддержание здоровья полости рта является одной из важнейших задач современной стоматологии. К числу наиболее актуальных ее проблем можно отнести кариес, ВЗП и СОР, что объясняется их высокой распространенностью, склонностью к прогрессированию, а также воздействием большого количества неблагоприятных факторов окружающей среды на здоровье полости рта и неоднозначными результатами лечения [54].

Согласно официальной статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) заболеваемость кариесом составляет практически 100% [156], а распространенность ВЗП – около 98%. Высокий уровень ВЗП отмечен как в возрастной группе 15-19 лет (55-99%, в России 98%), так и у лиц в возрасте 35-44 года (65-98%) согласно данным доклада научной группы ВОЗ (1990), в котором обобщены результаты обследования населения 53 стран [21, 54]. Кроме того, заболевания пародонта (по данным ВОЗ) занимают второе место после кариеса, а после 40 лет встречаются даже чаще, чем кариес [4].

В России были проведены два национальных эпидемиологических стоматологических обследования населения (первое – в 1996-1998 гг. с привлечением 47 338 человек из 46 субъектов РФ, а второе - в 2007-2008 гг. с участием 55 391 человек из 47 субъектов РФ) по унифицированным критериям, разработанным экспертами ВОЗ. Целью этих исследований была оценка средних показателей распространенности и интенсивности основных стоматологических заболеваний – кариеса зубов и ВЗП среди детского (возраст: 6, 12, 15 лет) и взрослого населения (возраст: 35-44 лет и 65 и старше) РФ, а также их мониторинг за 10-летний период. Признаки воспаления тканей пародонта выявлены более, чем у 40% 15-летних подростков и 80% лиц 35-44 лет, из которых 16% имеют резвившиеся стадии воспаления – пародонтальные карманы разной глубины. У лиц пожилого возраста (65 лет и старше), в среднем, удалено 18 зубов, количество лиц с полным отсутствием зубов в данной возрастной группе составило 14% [43].

Таким образом, можно сказать, что патология пародонта воспалительного характера занимает одно из ведущих мест в структуре всех стоматологических заболеваний во всем мире и в настоящее время не имеет тенденции к снижению [16, 18, 19, 25]. Также по результатам эпидемиологических исследований по изучению стоматологической заболеваемости детского

населения отчетливо видна явная тенденция к омоложению возраста больных с патологией пародонта и увеличению количества осложнений, связанных с этой патологией [129, 146].

Наиболее распространенными формами патологии пародонта являются гингивит и пародонтит. В современной классификации заболеваний пародонта (2001), которая является модифицированной версией классификации, утвержденной на XVI Пленуме Всесоюзного общества стоматологов (1983), приведены следующие определения [17]:

- **Гингивит** – (К 05.0 - К 05.19) воспаление десны, обусловленное неблагоприятным воздействием местных и общих факторов, которое протекает без нарушения целостности зубодесневого прикрепления и проявлений деструктивных процессов в других отделах пародонта.

- **Пародонтит** – (К 05.2 - К 05.3 - К 05.4) воспаление тканей пародонта, характеризующееся прогрессирующей деструкцией связочного аппарата периодонта и альвеолярной кости.

В основе этих двух заболеваний лежит процесс воспаления, который можно отнести к обратимым, как и обусловленные им заболевания [21]. Гингивит носит исключительно воспалительный характер, и поэтому при наличии профилактических (гигиенических) мер и лечения симптоматика заболевания быстро проходит, или напротив при отсутствии мер по ее предотвращению усугубляется и переходит в хроническую форму или пародонтит. В основе развития пародонтита также лежит воспаление, которое может сопровождаться разрушением всех тканей пародонта [25], то есть носить деструктивный характер. Отсутствие лечения в этом случае может увеличить риск потери зубов [25, 118].

Таким образом, в отличие от гингивита пародонтит можно отнести к более тяжелой форме ВЗП, что объясняется более серьезными последствиями и сложной терапией. Это также подтверждается данными статистики о распространенности этих двух заболеваний: гингивит чаще встречается в молодом возрасте (как начальная стадия ВЗП и более легкая быстропроходящая форма при наличии лечения), а пародонтит – после 30 лет (как следствие хронического течения гингивита и других сопутствующих факторов) [21].

1.2. Роль биопленок в развитии воспалительных заболеваний пародонта

В многочисленных эпидемиологических исследованиях была доказана микробная этиология основных заболеваний полости рта: кариеса зубов и его осложнений, а также ВЗП. В полости рта идентифицировано более 700 видов микроорганизмов, одни из которых относятся к «нормальной» или условно-патогенной микрофлоре (аутофлоре), а другие – к патогенной. Стрептококки, микрококки, стафилококки, нейссерии, коринебактерии, условно-патогенные энтеробактерии, анаэробные грамположительные и грамотрицательные бактерии являются типичными представителями резидентной (постоянной) микрофлоры, роль которой заключается

в поддержании резистентности слизистой полости рта и тканей пародонта к бактериальной инфекции, представленной грамотрицательными и грамположительными кокками, облигатными и факультативными анаэробами, актиномицетами, простейшими, фузобактериями, дрожжеподобными грибами. Выполнение данной защитной функции осуществляется за счет проявления ими слабовыраженного иммуномодулирующего эффекта, который усиливается при развитии хронического воспаления. Однако при срыве адаптационных механизмов местного и общего иммунитета происходит переход микроорганизмов аутофлоры из нормального состояния в патогенное [54].

A. actinomycetemcomitans, *P. gingivalis* входят в состав микробиоты полости рта большинства практически здоровых людей, однако их присутствие напрямую связано с глубиной пародонтального кармана и степенью тяжести воспалительно-деструктивных поражений тканей пародонта. Этот факт свидетельствует о том, что *Porphyromonas gingivalis* – главный патогенный микроорганизм, ответственный за развитие и прогрессирование рецидивирующих и трудноизлечимых ВЗП. Его патогенность проявляется в повышенной цитотоксичности, которая реализуется через ферменты агрессии: два главных протеолитических фермента (Arg-gingipain (Rgp) и Lys-gingipain (Kgp)) [74]. Основным фактором их вирулентности – способность проявлять устойчивость к проводимой антибактериальной терапии и местному иммунитету полости рта [54, 152].

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* также являются представителями нормальной микрофлоры (иногда резидентной, но чаще транзитной или временной). Ряд условий (состояния макроорганизма, количества грибов, степени патогенности грибов и длительности кандидоносительства) влияет на форму существования этих грибов. Транзитное кандидоносительство не имеет клинического значения в проявлениях заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта, а длительное приводит к отягощению течения хронических заболеваний бактериальной этиологии. Так появились две отдельные нозологии: гингивиты, вызванные специфическими грибковыми инфекциями, и кандидо-ассоциированный пародонтит (КАП) [54].

Пародонтопатогенные микроорганизмы находятся в двух состояниях: в планктонном (в виде свободно плавающих бактерий в среде, богатой питательными веществами) и в виде биопленок [42, 54, 59, 152]. Начиная с 2002 г., под понятием «биопленка» стали понимать микробное сообщество, состоящее из клеток, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс экстрацеллюлярных полимерных веществ и демонстрируют изменения фенотипа, т.е. параметров роста и экспрессии генов [42]. Основными критериями этого понятия являются:

- формирование в условиях текучих сред (слюна, десневая и ротовая жидкость);

- сложная структурная организация, включающая полимерно-клеточный матрикс и колонии микроорганизмов (в 1 г (мл) встречается от 100 тыс. до 1 млрд. микроорганизмов);
- регуляция сложными сигнальными взаимодействиями по типу как прямых, так и обратных связей на уровне рецепторов и сигнальных молекул [49].

Зубная бляшка считается одним из наиболее хорошо изученных мультивидовых микробных сообществ. В многочисленных исследованиях доказано, что ее следует рассматривать как многослойную биопленку, прилегающую к поверхности зуба. Однако, следует заметить, что белый налет (*materia alba*) является фактором, способствующим образованию биоплёнки, но не тождественен ей, так как выступает в роли источника питательных веществ для бактерий, составляющих биоплёнку и колонизирующих тонкую плёнку слюны, покрывающую зубы (пелликулу) [59].

Состав и структура биопленки напрямую связаны с этапами ее формирования. В разных литературных источниках количество стадий развития биопленки варьирует от трех до пяти. Первая стадия выражается в процессе прикрепления жизнеспособных бактерий к поверхности пелликулы и носит название первичной адгезии. Особенностью этого этапа является обратимость происходящего процесса. Вторая стадия сводится к формированию колоний за счет одновременно протекающих процессов «коагрегации» (слипанию бактерий между собой в слюне) и «коадгезии» (сорбции бактерий из слюны бактериями, фиксированными на поверхности зуба). с последующим образованием экзополисахаридного матрикса, выполняющего защитную функцию заключенных в него бактерий от неблагоприятных факторов. Наличие матрикса отождествляется с необратимым прикреплением микроорганизмов. Третья и четвертая стадия включают в себя дальнейшее «созревание» зубной бляшки, обусловленное ростом и размножением бактерий. Пятая стадия характеризуется дисперсией (выбросом бактерий) с целью образования новой колонии [42, 59].

Состав биопленки меняется с течением времени, что подтверждается наличием разных микроорганизмов на разных стадиях развития. Их разделяют на ранние (первичные), промежуточные и поздние (вторичные) колонизаторы. К первой группе относятся в основном (от 60 до 90%) стрептококки (*Streptococcus oralis* и *S. sanguis*), а также актиномицеты и отдельные клетки *Haemophilus spp.* *Streptococcus mutans*. Они формируют налет, а затем бляшку на любых поверхностях, включая новейшие реставрационные материалы [42].

Примером промежуточных колонизаторов является *F. nucleatum*, являющийся самым многочисленным грамотрицательным видом в интактных участках тканевых поверхностей полости рта. Его положение в процессе формирования биопленки объясняется коагрегацией со всеми ранними и поздними колонизаторами, при чем последние не коагрегируют друг с другом, а исключительно с ним [42].

Среди поздних колонизаторов (*A. actinomycetemcomitans*, *Pr. denticola*, *Treponema spp.*, *Eubacterium spp.*, *Veillonella atypica*) особенно выделяют пародонтопатогенные грамотрицательные, анаэробные бактерии *P. gingivalis* и *Treponema denticola* [42].

Представленные выше процессы с участием соответствующих микроорганизмов приводят к образованию многослойной структуры с разнородным участком клеток, окруженных экзополисахаридным матриксом, который пронизан водными каналами. Каналы биопленок обеспечивают циркуляцию питательных веществ и выводят продукты метаболизма. Существуют две разновидности биопленок: наддесневая, который преимущественно состоит из грамположительных микроорганизмов (*Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacilli*), и поддесневая – из грамотрицательных (*Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*). В большинстве случаев гингивит на ранних стадиях обусловлен наличием наддесневой биопленки. Переход гингивита из острой формы в хроническую и дальнейшее развитие пародонтита объясняется формированием поддесневой биопленки [42, 49, 54, 152].

Таким образом, отличие выше упомянутых патологий заключается в количестве и структурной организованности бактерий. Так, кариес может быть вызван несколькими видами отдельных бактерий, среди которых главную роль отводят *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus*, а ВЗП обусловлены организованными биопленками с их очень сложными взаимодействиями и значительно варьирующим составом [49].

1.3. Методы контроля биопленок в полости рта

Биопленки играют главную роль в этиологии заболеваний полости рта, в частности ВЗП так же, как и многих других хронических системных заболеваний [42]. Существуют два пути влияния на нее:

- 1) предотвращение ее образования на первой обратимой стадии адгезии;
- 2) нарушение целостности ее структуры и восстановление нормальной микрофлоры с помощью гигиены полости рта.

Таким образом, необходимость в контроле над формированием биопленки послужила развитию новых профилактических и лечебных стратегий. Существуют два метода контроля: механический и химический.

Первый метод контроля подразумевает механическое удаление зубного налета, что позволяет избежать запуска процесса образования биопленки и тем самым предотвратить многие воспалительные заболевания [76].

Появление химического контроля продиктовано недостаточной эффективностью механического контроля. По этой причине в состав СГПР стали добавлять различные противомикробные вещества, которые согласно классификации, предложенной Mandel ID в 1988 году, делятся на пять соответствующих категорий [110, 134, 136].

- 1) **Антисептики**, демонстрирующие широкий спектр антибактериальной активности;
- 2) **Антибиотики**, способные ингибировать или вызывать гибель специфической группы бактерий;
- 3) **Фермент или группа ферментов**, способные модифицировать или разрушать структуру биопленки, воздействуя на ее экзополисахаридный матрикс, или иным образом изменять ее активность;
- 4) **Вещества**, не относящиеся к группе ферментов, но вызывающие изменения, денатурацию структуры или метаболической активности биопленки;
- 5) **Противоадгезивные вещества**, препятствующие прикреплению всех или некоторых бактерий полости рта к пелликуле или друг к другу [110].

Наиболее яркими представителями являются хлоргексидин, триклозан и эфирные масла, способные проникать в массу биопленки и вызывать гибель растущих внутри них бактерий [68, 76, 110, 136, 175]. Эти агенты имеют положительные показатели безопасности, и их использование не представляет повышения уровня резистентных видов.

Хлоргексидин относится к группе катионных бигуанидов. В стоматологии он является золотым стандартом, по которому измеряют противоналетное и противогингивитное действие других противомикробных веществ. С 1950-х годов он используется как антисептик широкого спектра действия в составе зубных паст, ополаскивателей полости рта, спреев, лаков и жевательных резинок без добавления сахара. Он активен в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (в частности *Streptococcus aureus*, *Porphyromans gingivalis* и *Prevotella intermedia*), грибов, дрожжевых грибков, дерматофитов, липолитических вирусов, вируса гепатита В, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), а также *Streptococcus mutants*, что говорит о его противокариозном, противоналетном и противогингивитном действии [76]. Проявление бактериостатической активности происходит при низких концентрациях хлоргексидина, а бактерицидной – при высоких. Таким образом, выраженность и характер его антимикробного воздействия имеют отчетливый дозозависимый эффект. Наиболее широким спектром антимикробной активности обладает хлоргексидина биглюконат в высокой терапевтической концентрации (не менее 0,2%) [50]. В ополаскивателях она составляет 0.2% или 0.12%, а в гелях – 1%, 0.2%, 0.12% [76]. Таким образом, концентрация хлоргексидина является важным фактором при выборе СГПР на его основе, так как выраженность и характер его действия в них отличается, а, следовательно, и цели его применения. Также следует принять во внимание

наличие следующих побочных эффектов, связанных с его применением: поверхностное окрашивание зубов и других поверхностей в полости рта, усиление образования зубного камня, временное обратимое изменение вкусовых ощущений.

В качестве альтернативы хлоргексидину появился некатонный антибактериальный препарат, *триклозан*, обладающий хорошей совместимостью с другими компонентами СГПР. В нем уникально сочетаются следующие свойства: высокая эффективность даже в очень низких концентрациях, быстрый и длительный эффект в борьбе со всеми видами бактерий, безопасность для человека, крайне низкая аллергичность и нетоксичность, действие на антибиотико-резистентные бактерии, в том числе условно-патогенной микрофлоры полости рта, прямой противовоспалительный эффект за счет подавления выработки медиаторов воспаления. Наиболее эффективной в подавлении накопления зубного налета является концентрация 0,3% триклозана в составе СГПР [50, 60]. Однако, клиническая эффективность противоналетного действия изолированного триклозана существенно ниже хлоргексидина в терапевтических концентрациях, по этой причине первый используется в двух комбинациях:

- 1) с цитратом цинка, обладающего документированной способностью к нарушению адгезии зубного налета и предотвращению формирования зубного камня;
- 2) с сополимером PVM/МА (поливинилметиловым эфиром малеиновой кислоты) с содержанием «0,3% триклозан/ 2% PVM/МА кополимер» [50, 68].

Таким образом, триклозан проявляет бактериостатическое действие в небольших дозах (0.3 %) в составе зубных паст в виде соответствующего комплекса с целью профилактики гингивита, а в высоких концентрациях (от 0.2% до 2%) он оказывает бактерицидное действие в составе ополаскивателей. Основными лечебно-профилактическими эффектами СГПР на основе комплекса «триклозан-кополимер» являются клинически значимое предотвращение отложения мягкого зубного налета и зубного камня, устранение галитоза (неприятного запаха изо рта), противовоспалительное действие с ускоренной ликвидацией явлений гингивита и подавлением активности патологических процессов при пародонтите. Однако, применение местных синтетических антисептиков таких, как хлоргексидин и триклозан в составе СГПР с целью осуществления химического контроля за формированием зубного налета может привести к появлению потенциальной возможности выработки резистентности к ним в естественных условиях, а также опасений развития перекрестной или ко-резистентности к другим антимикробным средствам [50].

В этом случае возрастает роль природных противомикробных средств. Эфирные масла обладают широким антимикробным спектром действия, влияющим на грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также дрожжи. Эфирные масла действуют аналогично оральным антисептикам, оказывая бактерицидный эффект за счет разрушения клеточной стенки бактерий,

ингибирования ферментов микроорганизмов и тем самым предотвращая колонизацию бактерий на поверхности зубов. Их механизм действия сводится к прекращению объединения новых бактерий с ранними колонизаторами (грамположительными бактериями), замедлению бактериального размножения и извлечению эндотоксинов грамотрицательных патогенов. Это может привести к снижению бактериальной нагрузки, замедлению процесса созревания зубного налета, уменьшению его массы и патогенности. Тридцать два исследования, проведенных за период с 1980г. по 2012г., включают в себя данные о действии эфирных масел на зубной налет и гингивит в составе ополаскивателей [68, 175].

Особенности действия эфирных масел как отдельной группы противомикробных агентов, входящих в качестве активных ингредиентов в состав таких СГПР, как ополаскиватели полости рта и зубные пасты, сводятся к следующему:

- 1) воздействие на зрелые биопленки полости рта выражается в проникновении внутрь этой организованной структуры и последующей гибели населяющих ее микроорганизмов;
- 2) влияние на два вида биопленок и на три основных стоматологических заболевания:
 - ✓ на наддесневой (зубной налет и бляшку), что препятствует развитию кариеса и гингивита;
 - ✓ на поддесневой (зубной камень), что замедляет скорость прогрессирования пародонтита;
- 3) предотвращение процесса реколонизации биопленок на поверхности зубов, в результате проявления бактерицидной активности в отношении особенно грамотрицательных анаэробов во всей полости рта;
- 4) уменьшение объема зубного налета в труднодоступных местах, межзубном пространстве. Это выражается в уменьшении значений стоматологических индексов (MGI на 21%, а индекс зубного налета (PI) на 51,9%), *Streptococcus mutans* (на 75,4%) и общего содержания жизнеспособных бактерий (на 43,8%) в межзубном пространстве после 5 минут одноразового 30-секундного полоскания [68, 175];

Недавние исследования показали, что и группа бигуанида во главе с хлоргексидином, и группа соединений фенольной природы во главе с эфирными маслами, способны проникать внутрь биопленок и уменьшать объем зубного налета и гингивита. Однако, эфирные масла показали высокий уровень пенетрации и являются более эффективными по отношению к зрелой биопленки, чем другие противоналетные агенты такие, как фторид олова или триклозан-кополимер [111]. Этот факт послужил основанием для Американской Стоматологической Ассоциации (ADA) и FDA утвердить два противомикробных агента для лечения гингивита: раствор хлоргексидина биглюконата в виде ополаскивателя для полости рта, отпускаемый по рецепту, и безрецептурную жидкость для полоскания на основе эфирных масел (под торговой

маркой LISTERINE® на основе индивидуальных БАВ ЭМ: тимол, эвкалиптол, ментол, метилсалицилат) [68, 76, 110, 130, 136]. Таким образом, все тридцать два исследования свидетельствуют о статистически значимом антибактериальном действии таких природных компонентов, как эфирные масла, которые в свою очередь не только сравнимы по эффективности с золотым стандартом (хлоргексидином) противомикробной терапии кариеса, гингивита и пародонтита, но и в некоторых аспектах превосходят другие противокариозные (фториды), а также противовоспалительные и противоналетные агенты (триклозан).

1.4. Роль фитопрофилактики в индивидуальной гигиене полости рта

После того, как стало известно, что в развитии таких основных заболеваний полости рта, как кариес, гингивит и пародонтит, первостепенное значение отводится формированию биопленок на поверхности зубов и слизистой оболочки, появились соответствующие методы профилактики и лечения.

Согласно бюллетени ВОЗ 2015 года решение этой острой проблемы пародонтита во всем мире заключается в разработке документа о профилактике заболеваний полости рта [156].

Осуществление химического контроля за формированием биопленки (зубной бляшки) в результате применения СГПР, к которым относятся зубные пасты и ополаскиватели, является основной профилактической мерой, доступной в большинстве всех стран мира. Антимикробные вещества, входящие в состав СГПР, обеспечивают профилактический и лечебный эффект [42]. В связи с очевидным прогрессом в области создания синтетических лекарственных средств (ЛС) в XX веке использование хлоргексидина и триклозана в качестве противомикробных агентов в целях гигиены полости рта резко увеличилось и до сих пор остается актуальным. Тем не менее, несмотря на эффективность многих прописей зубных паст и ополаскивателей с синтетическими антибактериальными компонентами, поиски природных веществ с этими свойствами с каждым годом только увеличиваются. Включение эфирных масел как отдельной группы противомикробных веществ в состав СГПР и проведение 32 длительных исследований за период с 1980-2012гг. с привлечением более 5000 пациентов [68], страдающих гингивитом, говорит о том, что современная стоматология ориентирована на фитотерапию и фитопрофилактику основных заболеваний полости рта [3, 23, 97, 185].

В последние годы интерес к фитотерапии начал возрождаться с новой силой [23]. Это связано с тем, что БАВ лекарственных растений более родственны организму человека по своей природе, легче включаются в процесс жизнедеятельности, имеют более широкий спектр действия и активны в отношении штаммов микроорганизмов и вирусов, и поэтому рекомендованы для профилактики и лечения многих хронических заболеваний, в том числе ВЗП [1]. Они обеспечивают профилактическое действие за счет влияния на адаптивные силы организма [23]. Некоторые методы фитотерапии были общепризнаны после проведения

обширных исследований в области химии и фармакологии и подтверждены данными клинических исследований. Отмечены особые преимущества фитотерапии, которые включают [122]:

- 1) уникальные механизмы действия,
- 2) обычно низкий профиль побочных эффектов,
- 3) относительно низкая стоимость;
- 4) высокий уровень признания (Shoskes, 2002) [88].

Таким образом, фитотерапию и фитопрофилактику можно считать альтернативной медициной [97, 148, 170]. В связи с большой распространенностью основных заболеваний полости рта роль профилактики этих патологий носит первостепенный характер во всем мире. Индивидуальная и профессиональная гигиена полости рта – главные профилактические меры по контролю образования биопленок и предотвращению заболеваний, вызываемых ими [42]. Использование СГПР на основе антимикробных растительных компонентов (экстрактов, эфирных масел или отдельных БАВ) говорит о ориентации современной стоматологии, и индивидуальной гигиены полости рта в частности, на фитопрофилактику и фитотерапию как альтернативную медицину.

1.5. Основные виды средств индивидуальной гигиены полости рта. Их преимущества и недостатки

В техническом регламенте ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» приводится определение термина «средства гигиены полости рта», как парфюмерно-косметической продукции гигиенического и/или профилактического действия, предназначенной для непосредственного нанесения на зубы, десны и слизистую оболочку полости рта с единственной и/или главной целью их очищения, ароматизации, изменения их внешнего вида, их защиты, поддержания в хорошем состоянии [51]. Несмотря на большой и разнообразный ассортимент СГПР, официально признанной классификации этой продукции не существует. Однако анализ рынка СГПР и нормативной документации, регламентирующей требования к их качеству на территории РФ, странах Евразийского экономического союза и Евросоюза, показал два основных вида этой продукции: пасты зубные и СГПР жидкие (эликсиры, полоскания, ополаскиватели, освежители, бальзамы и т.п.). Согласно определению, приведенному в ГОСТ 7983-99, зубная паста представляет собой многокомпонентную систему, состоящую из абразивных, влагоудерживающих, связующих, ароматических веществ, воды, содержащую, в дополнение, лечебно-профилактические, поверхностно-активные, вкусовые и консервирующие добавки в различных комбинациях. Оговаривается форма выпуска подобных средств (паста, крем, гель), и дается указание на подклассы зубных паст по своему назначению – гигиенические и лечебно-профилактические [7]. Согласно определению, приведенному в ГОСТ Р 51577-2000,

жидкие СГПР представляют собой водные, спиртоводные или водно-спиртовые растворы, содержащие лечебно-профилактические вещества, а также возможно присутствие влагоудерживающих, связующих, поверхностно-активных, вкусовых, ароматических, консервирующих добавок в различных комбинациях и красителей. Указывается на отсутствие в их составе сахарозы и других легкоферментируемых углеводов. Оговаривается форма выпуска подобных средств (эликсиры, полоскания, ополаскиватели, освежители, бальзамы и т.п.) и уточняется их назначение (для ухода за зубами и слизистой оболочкой полостью рта) [13]. Определения терминов «зубная паста» и «жидкие СГПР» присутствуют исключительно в национальных стандартах, а в прочей нормативной документации не приводятся. С точки зрения воздействия на биопленки полости рта каждый вид СГПР обладает определенными преимуществами перед другим. Исходя из формы и назначения жидких СГПР видно, что их характерной особенностью является оказание антимикробного действия во всей полости рта, в частности в очень труднодоступных местах скопления (межзубное пространство) оральных патогенов, и, как следствие, препятствие повторной колонизации бактерий на поверхности зубов со слизистой оболочки. Наличие таких экстрагентов, (вода и спирт этиловый), которые используются для изготовления лекарственных растительных препаратов (ЛРП) (настоек и отваров) позволяет сохранить БАВ в фармакологически активном состоянии [53]. Зубная паста считается идеальным способом доставки противомикробных компонентов в полость рта, так как последние оказывают прямое действие на биопленки, находящиеся на поверхности зубов, тем самым непосредственно влияя на главный этиопатогенный фактор развития кариеса, гингивита и пародонтита и препятствуя их дальнейшему прогрессированию [151]. Однако, с учетом частоты использования этих двух основных СГПР (2 раза в день, утром и перед сном) их совместное применение приводит к комплексному решению как краткосрочных проблем за счет непосредственно влияния зубных паст на биопленки, так и долгосрочных за счет предотвращения повторной колонизации бактерий ополаскивателями. Данный подход является наиболее эффективным в вопросах профилактики и возможного лечения основных заболеваний полости рта.

1.5.1. Зубные пасты и ополаскиватели на основе природных антимикробных БАВ лекарственных растений

С учетом наметившейся в последние годы в современной стоматологии тенденцию к расширению использования фитопрофилактики и фитотерапии [1, 3, 23, 122, 148, 185] увеличился ассортимент СГПР на основе растительных и натуральных компонентов. Высокая популярность указанной выше продукции объясняется несколькими причинами: растущей потребностью населения во всем мире в продуктах растительного происхождения, особенно в случаях длительного и рутинного применения; эффективностью использования лекарственных

трав в народной медицине на протяжении многих веков; безопасностью, выражающейся в сравнительно меньшем количестве нежелательных реакций, связанных с фитотерапией [65, 67, 88, 122, 124, 147, 158]. Первостепенное значение отводится наличию антимикробной активности в отношении пародонтопатогенных бактерий, поэтому экстракты растений изучаются в качестве потенциальных источников новых антибактериальных агентов, а поиски природных веществ с этими свойствами увеличиваются. Проявление противомикробного действия обусловлено присутствием либо группы БАВ, либо конкретным активным соединением природного происхождения. Выделяют четыре основные группы антибактериальных БАВ: терпеноиды, дубильные вещества (танины), флавоноиды (полифенолы) и алкалоиды, а также витамин С [65, 67, 122]. Выбор и включение в состав прописи СГПР указанных далее растений происходит на основании содержания в них этих действующих веществ, активных в отношении микроорганизмов биопленки.

1.5.1.1. Воздействие на биопленки полости рта

В Нидерландах было проведено исследование по оценке противомикробной эффективности двух зубных паст на основе природных антимикробных агентов против биопленок полости рта разного состава и находящихся на разных стадиях развития. В зависимости от количества населяющих их бактерий биопленки разделили на две группы: двувидовые, в состав которых входили *Actinomyces naeslundii* и *Streptococcus oralis*, и многовидовые, выращенные из свежесобранной человеческой слюны. Испытуемые образцы были представлены зубной пасты Parodontax экстрактов ромашки, шалфея, эхинацеи, мирры, мяты перечной, без фтора и Chitodent на основе хитозана; положительный и отрицательный контроль – ополаскивателем, содержащим хлоргексидин, и буферным раствором соответственно. В результате эксперимента было выявлено, что зубная паста Parodontax проявляет быстрое бактерицидное действие пролонгированного характера по отношению к микроорганизмам биопленок полости рта. Объем последних уменьшился на 21-34%, а жизнеспособность микроорганизмов – до 60% и ниже. Длительное действие природных антибактериальных соединений свидетельствует о том, что зрелые биопленки могут служить резервуаром для пероральных противомикробных препаратов, что способствует пролонгированию бактерицидного действия последних, в то время как первоначальные биопленки, очевидно, слишком тонкие, чтобы служить в качестве эффективного резервуара [181]. Данное исследование демонстрирует целесообразность и актуальность применения зубных паст и ополаскивателей на основе природных антибактериальных компонентов против главного этиопатогенного фактора ВЗП, так как они проявляют сопоставимую, а в некоторых случаях и лучшую эффективность как при краткосрочной, так и длительной профилактики/терапии по сравнению с широко известными эталонными противомикробными агентами.

1.5.1.2. Показатели клинической эффективности зубных паст на растительной основе и сравнение их антимикробного действия с аналогичным действием зубных паст на основе фтора, триклозана, хлоргексидина

Для подтверждения антимикробной эффективности зубных паст на растительной основе были проведены исследования как *in vitro* [81, 127, 151, 161, 163], так и *in vivo* (в форме рандомизированных контролируемых двойных слепых клинических исследований) [148, 149, 158, 169, 174]. Для оценки их эффективности использовали традиционные противокариозные фтор-, или хлоргексидин-, или триклозансодержащие (Colgate® Total) зубные пасты в качестве контрольной группы, а также основные стоматологические индексы (индекс зубного налета (PI) по Quigley и Hein, десневой индекс (GI)) и второстепенные (индекс кровоточивости при зондировании (ВОР)) в качестве количественных критериев. Ранее изучали действие индивидуальных БАВ, выделенных из растительного сырья, на патогенные микроорганизмы полости рта, и в качестве испытуемых образцов использовали ополаскиватели [127, 151]. На данный момент изучают антимикробную эффективность зубных паст, содержащих растительные экстракты и эфирные масла. В качестве объектов клинических исследований выступали зубные пасты Parodontax® с фтором (GlaxoSmithKline, Великобритания), а в исследованиях *in vitro* – Parodontax® без фтора. В состав первого объекта входят натрия бикарбонат, натрия фторид (1,400 ppm) и экстракты шести трав: ромашки, эхинацеи, шалфея и ратании, мирры и масло мяты перечной. Colgate® Total (Colgate-Palmolive Company, США) содержит 0,3% триклозана, 2% триклозан-кополимера и 0,243% фторида натрия. По результатам клинических исследований зубные пасты на растительной основе оказывают статистически значимое ингибирующее действие на образование зубного налета, имеют сниженные значения PI ($P = 0.032$) и GI, что говорит об эффективности зубных паст на растительной основе против гингивита. Существенных различий между испытуемыми образцами и группой контроля не было выявлено, что свидетельствует о сопоставимом клиническом эффекте двух зубных паст, разных по природе входящих в их состав активных компонентов [148, 149, 158, 169, 174].

Исследования *in vitro* проводили с помощью стандартизованного диско-диффузионного метода. В качестве испытуемых объектов использовали как зубные пасты известных международных марок (Colgate® Herbal®, Aquafresh® Herbal), так и национальных индийских (Dentazyme® Herbal) и немецких (Meliamint®). В качестве контрольной группы также использовали Colgate® Total. Полученные результаты несколько отличаются от результатов клинических исследований. Meliamint® без добавления фтора, содержащая мяту, гвоздику, ромашку, мастиковую смолу, прополис и хлорофилл, более эффективна, чем Colgate® Total в профилактике гингивита. Dentazyme® Herbal и Colgate® Herbal – зубные пасты с эвгенолом и маслом чайного дерева. Однако, антимикробный потенциал Dentazyme® Herbal значительно

сильнее, чем у Colgate® Herbal. По этой причине нельзя сделать однозначный вывод, что противомикробное действие этих зубных паст обосновано наличием исключительно этих двух активных компонентов [151]. Таким образом, в исследованиях *in vitro* зубные пасты на растительной основе демонстрируют либо более высокую, либо сравнимую, либо в редких случаях меньшую антимикробную эффективность по сравнению с фтор- и триклозансодержащими зубными пастами.

1.5.1.3. Показатели безопасности: нежелательные реакции, применение у особой группы пациентов (детей)

Как известно, понятие «эффективность» неразрывно связано с другим не менее важным понятием «безопасность», а соотношение польза/риск является неотъемлемым условием для использования продукции профилактического или лечебного назначения.

По данным научной литературы широкое применение СГПР на основе растительных экстрактов и эфирных масел связано также с их низкой токсичностью по сравнению с СГПР, содержащими хлоргексидин, триклозан, цетилпиридиний хлорид и фтор. На данный момент снижение распространенности зубного кариеса объясняется использованием фторсодержащих зубных паст. Однако распространенность зубного флюороза увеличилась по всему миру, а одним из основных факторов риска его развития является применение данного вида СГПР до 6 лет. С целью минимизации этого риска у младенцев и детей в возрасте от 1 до 8 лет возникла необходимость развигать альтернативные прописи зубных паст на основе экстрактов лекарственных растений, эфирных масел или индивидуальные БАВ с доказанной антимикробной активностью для использования в детской стоматологии. Таким образом, применение СГПР на растительной основе у детей говорит о высоком профиле безопасности данного вида продукции [65, 81]. Однако, прописи данных СГПР должны быть стандартизованы, содержание активных действующих веществ должно находиться в пределах строго определенных норм, а использование подобных зубных паст и ополаскивателей должно строго регламентироваться, особенно у такой группы пациентов, как дети [183]. Подобные требования к системе качества данной категории СГПР помогут повысить не только эффективность конечного продукта, а также уменьшить риск появления нежелательных реакций, то есть повысить профиль безопасности и возможность ее применения у разных групп пациентов.

1.5.1.4. Перспективные эфирномасличные растения с антибактериальной активностью, используемые в стоматологии

Мировой опыт показывает, что стандартизация и обеспечение надлежащего качества выпускаемого продукта предполагают аналогичные процедуры для индивидуальных субстанций, входящих в его состав, а в случае если эти субстанции выделены из природного

сырья, то и стандартизацию исходного сырья. Поэтому целесообразно рассмотреть научную литературу и нормативную документацию, посвященную анализу наиболее часто применимых растений в составе стоматологической продукции, представленной на российском и международном рынке.

Ниже рассмотрено 21 растение, содержащее ЭМ (эфироносы), согласно строго определенным критериям: ботаническому названию растения на русском и латинском языках, принадлежности к семейству, применяемому ЛРС для получения ЭМ, наличие частных статей на производящее растение и ЭМ в ведущих фармакопеех мира, химическому составу, основным действующим веществам преимущественно с антибактериальной активностью, фармакологическому действию, применению в стоматологии, формам СГПР, влиянию на биопленки основных кариесогенных и пародонтопатогенных микроорганизмов, минимально подавляющей концентрации (МПК) и минимально бактерицидной концентрации (МБК). Среди перечисленных растений будут примеры хорошо изученных фармакопейных видов, имеющих долгую историю применения в рамках как индивидуальной, так и профессиональной гигиены полости рта. Также будут представлены экзотические виды субтропического климата, которые еще не включены в нормативные документы государств и находятся на стадии исследования химического состава и антимикробной активности *in vitro*. Последние рассматриваются с точки зрения их потенциального применения в качестве лечебно-профилактических добавок в составе СГПР в таблице 34.

В 2015 году был опубликован систематический обзор, в котором рассматривали антибактериальную активность эфирных масел и выделенных из них БАВ по отношению к кариесогенным микроорганизмам. По результатам анализа 25 из 1405 научных статей были выделены 30 видов растений с сильно и умеренно выраженным антибактериальным эффектом по отношению к главному возбудителю кариеса *S. mutans*. Критерием отбора стали значения МПК равные или ниже 100 мкг/мл [108]. Лучшие показатели были у следующих представителей:

По результатам проведенного скринингового анализа можно сделать ряд следующих выводов:

- ✓ Большинство потенциальных растений не имеют полного ботанического названия производящего растения на русском языке;
- ✓ Среди всех семейств преобладают астровые (*Asteraceae*), яснотковые (*Lamiaceae*), и в меньшей степени миртовые (*Myrtaceae*), сельдерейные (*Apiaceae*);
- ✓ Одна треть эфироносов перспективных для использования в практической стоматологии приходится на жизненную форму - дерево;
- ✓ Большая часть растений представлена экзотическими видами, произрастающими в субтропическом климате и за пределами Российской Федерации (РФ);

- ✓ В большей степени ЛРС для получения ЭМ представлено либо листьями, либо травой (наземной частью);
- ✓ Не все рассмотренные виды производящих эфирномасличных растений и ЛРС можно отнести к разряду фармакопейных;
- ✓ Монотерпены преобладают среди БАВ ЭМ;
- ✓ Основными или главными БАВ ЭМ чаще всего являются два, реже три соединения;
- ✓ Основные разновидности фармакологической активности представлены противомикробным (антибактериальным), противогрибковым и противовоспалительным действием.

1.5.1.5. Анализ химического состава и механизма антибактериального действия эфирных масел, используемых в стоматологической практике

В ГФ XIII издания, томе II, ОФС.1.5.2.0001.15 приведено определение понятия «эфирные масла», где сказано, что «ЭМ – продукты растительного происхождения, являющиеся многокомпонентными смесями летучих душистых веществ и относящиеся к различным классам органических соединений. В составе ЭМ преобладающими компонентами в большинстве случаев являются терпены и их производные, которые, как правило, представлены монотерпеноидами и сесквитерпеноидами, относящимися к различным классам органических соединений (насыщенные и полиненасыщенные, ациклические, моноциклические, бициклические и трициклические, а также кислородсодержащие). Встречаются также ароматические и алифатические соединения нетерпенового строения (спирты, фенолы, кислоты, альдегиды, сложные эфиры, сульфиды и др.)» [39]. Эти вещества относятся к продуктам вторичного метаболизма [24]. Им приписывают адаптивное значение и защитные свойства против хищников, микроорганизмов или плохих погодных условий. Среди 100 000 известных вторичных метаболитов, более 3000 приходится на счет ЭМ, из которых около 300 имеют коммерческий интерес и используются в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. ЭМ занимают особое положение среди всех природных биологически активных агентов с потенциальным противомикробным действием. Отличительной особенностью всех этих веществ является низкая молекулярная масса [78, 108].

Наиболее широко известными терпенами являются р-цимен, лимонен, терпинен, сабинен и пинен. Большинство терпенов либо не обладают собственной высокой антимикробной активностью, либо уровень ее проявления слишком низкий. Так один из наиболее важных компонентов ЭМ чабреца (тимьяна ползучего *Thymus serpyllum* L.) р-цимен самостоятельно не демонстрирует антимикробное действие на грамотрицательные патогены, а лимонен, α-пинен, β-пинен, γ-терпинен δ-3-карен, (+)-сабинен и α-терпинен показывают низкие значения

антибактериальной активности в отношении 25 видов бактерий [102]. Таким образом, применение терпенов в качестве противомикробной монотерпии неэффективно.

Наиболее типичными и хорошо знакомыми представителями группы терпеноидов являются тимол, карвакрол, линалоол, ментол, гераниол, линалил ацетат, цитронеллаль, цитронеллол и пиперитон. Антимикробная активность связана с их функциональными группами, а именно гидроксильной группой фенольных терпеноидов, а также с присутствием делокализованных электронов [70]. Так химическое строение тимола и карвакрола отличается расположением гидроксильной группы, что отражается в разных механизмах действия, но не влияет на характер и направленность противомикробной активности. Эти терпеноиды разрушают внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий, что приводит к высвобождению липополисахарида и делает их клетки чувствительными к детергентам [102]. Таким образом, вызывая структурные и функциональные изменения наружной и цитоплазматической (внутренней) мембран, тимол и карвакрол способствуют их необратимому повреждению и косвенно увеличивают их проницаемость. Также тимол может взаимодействовать с мембранными белками, что приводит к высвобождению ионов K^+ и молекул АТФ, и внутриклеточными мишенями белковой природы. Однако, следует заметить, что низкие концентрации тимола могут привести к адаптации липидного барьера и поддержанию структурной и функциональной целостности бактериальной мембраны [179]. Карвакрол также контролирует отток H^+ , K^+ и АТФ из клетки. В отношении белков возможны два пути воздействия: либо их сворачивание, либо подавление синтеза (например, основного белка жгутиков прокариот флагеллина) [70]. Антимикробная активность последних веществ может быть усилена р-цименом, благодаря его высокому сродству к мембранам бактериальных клеток [159]. Он расширяет мембраны, затем включается в их состав и замещает некоторые их элементы. В результате происходит снижение энтальпии фазового перехода насыщенных жирных кислот в ненасыщенные и температуры их плавления. Помимо этих процессов наблюдается изменение трансмембранного потенциала, что приводит к снижению подвижности клетки из-за нехватки протондвижущей силы, необходимой для работы жгутиков [100].

Представителями второй группы являются фенилпропаноиды, класс растительных органических соединений ароматического ряда, которые синтезируются преимущественно через аминокислоту фенилаланин. Они обладают широким спектром защитных функций от травоядных животных и микробных заболеваний, от ультрафиолетового света, служат структурными компонентами клеточных стенок, пигментов, выполняют роль сигнальных молекул. Их характерным структурным фрагментом является бензольное кольцо с присоединённой к нему неразветвленной трёхуглеродной цепью (фенилпропана) [93]. Наиболее популярными фенилпропаноидами считают эвгенол, изоэвгенол, хавикол, сафрол, эстрагол,

коричный альдегид, которые в большинстве случаев являются основными компонентами различных ЭМ [141]. Проявление высокой антимикробной активности связывают со свободными гидроксильными группами. Противомикробное действие эвгенола объясняется присутствием двойной связи боковой цепи в положениях α и β , а также метокси-группа в γ -положении. Проявление такого рода активности зависит не только от типа и количества заместительных групп ароматического кольца (что характерно и для других соединений ЭМ такого же строения), но и от штамма микроорганизма и условий испытаний [150]. Изоэвгенол активнее эвгенола в отношении бактерий, но также эффективен против дрожжевых и плесневых грибов. Эвгенол и изоэвгенол проявляют высокую активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий [119]. Механизм действия эвгенола направлен на изменение структуры мембраны, воздействуя на транспорт ионов, аденозинтрифосфат (АТФ) и на профиль жирных кислот, а также активности бактериальных ферментов, включая аденозинтрифосфатазу (АТФазу), гистидин карбоксилазу, амилазу и протеазу. Механизм действия коричневого альдегида зависит от концентраций: при низких концентрациях он ингибирует ферменты, участвующие в цитокиновых взаимодействиях или других менее важных функциях клеток, при более высоких – он действует как ингибитор АТФазы, а при летальных – разрушает мембрану. Также, как и эвгенол он способен изменить профиль жирных кислот [141].

Таким образом, антимикробная активность ЭМ зависит от их химического состава и количества отдельных компонентов. Многие из этих соединений постоянно присутствуют в растениях, а другие, наоборот, синтезируются в ответ на воздействие патогенов как защитный механизм. Эти молекулы или находятся в активной форме, или могут быть переведены в нее с помощью специфических ферментов в случае биотического или абиотического стрессов растения. Различие в количественном составе конкретных соединений влияет на антимикробную активность ЭМ. Высокие концентрации коричневого альдегида, эвгенола, цитраля способствуют более выраженному ее проявлению [117], а умеренные концентрации монотерпенов и фенолов, присутствующие в ЭМ чабреца, шалфея и розмарина – заметному, но менее выраженному противомикробному, противогрибковому и противовирусному действию. При низких концентрациях фенольные соединения ЭМ связываются с ферментами, участвующими в продукции энергии, при высоких – они вызывают денатурацию белков. Механизм действия ЭМ также зависит от их химического состава. Однако, нельзя выделить отдельный уникальный механизм, характеризующий исключительно антибактериальную активность ЭМ, так как она представлена каскадом последовательных реакций с участием всей бактериальной клетки [92]. В целом, ЭМ ингибируют рост последней, а также продукцию ее токсичных метаболитов. Наиболее сильное действие ЭМ оказывают на грамположительные виды бактерий, чем на грамотрицательные, что объясняется различием в строении клеточной стенки микроорганизмов

(рис. 1) [113]. В первом случае она представляет собой гомогенный слой толщиной 20—80 нм, построенный в основном из пептидогликана, во втором случае – тот же пептидогликановый слой, не плотно прилегающий к цитоплазматической мембране (ЦПМ) и составляющий лишь 2—3 нм. Он в свою очередь окружён наружной мембраной. Между ЦПМ, слоем пептидогликана и внешней мембраной имеется пространство, называемое периплазматическим, и заполненное раствором, включающим в себя транспортные белки и ферменты. Наружная мембрана снаружи состоит из липополисахаридов, в частности из липида А, полисахаридного ядра и антигена О, а изнутри – из фосфолипидов. Такая сложная организация клеточной стенки грамотрицательных бактерий препятствует взаимодействию с ней компонентов ЭМ и проявлению антимикробной активности. По этой причине гидрофобные соединения ЭМ лучше проникают через пептидогликановый слой и ЦПМ грамположительных бактерий [141].

Таким образом, основными мишенями ЭМ являются мембраны, в особенности наружная у грамотрицательных микроорганизмов, и цитоплазма. Из-за большого количества БАВ в составе ЭМ единого механизма действия не существует, поэтому есть ряд процессов, которые ассоциируются с проявлением их антимикробной активности. Деградация клеточной стенки [42, 114], повреждение ЦПМ и ее белков приводят к увеличению их проницаемости и нарушению транспорта молекул и ионов, после чего происходит снижение мембранного потенциала [92], коагуляция цитоплазмы, денатурация ферментов и клеточных белков, потеря внутриклеточных метаболитов и ионов. Помимо деструкции мембран возможна их реструктуризация за счет включения в их состав гидрофобных компонентов ЭМ или замена ненасыщенных липидов на насыщенные, что снижает скорость прохождения веществ через мембрану в 20 раз и впоследствии вызывает гибель клетки. ЭМ разрушают систему переноса электронов, что способствует накоплению АТФ внутри клетки и вызывает дальнейшую деструкцию мембраны. Также происходит уменьшение протондвижущей силы [180] и внутриклеточного резерва АТФ за счет снижения его синтеза и преобладания процессов гидролиза. Таким образом, ЭМ оказывают действие на все жизненно важные элементы клетки: на защитный барьер в виде разного рода мембран, на транспорт веществ, необходимого для поддержания жизнедеятельности, на энергетические запасы и их непрерывное пополнение. Все эти деструктивные изменения в конечном счете приводят к гибели клетки.

1.5.1.6. Характеристика индивидуальных биологически активных веществ эфирных масел и видов их взаимодействий

Среди всего химического разнообразия состава ЭМ выделяют несколько главных соединений, содержание которых превалирует над другими веществами и чье присутствие обуславливает конкретное фармакологическое действие. В последнее время изучение ЭМ с целью выделения основных БАВ стало очень перспективным направлением науки. На данный

момент существует около трех способов получения индивидуальных веществ: органический синтез, выделение веществ с помощью биомониторинга и с последующим применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), биотрансформация существующих доступных органических соединений как одно из направлений биотехнологии. Терпены – это одна из самых перспективных групп веществ природного происхождения с точки зрения биотехнологии. Они обладают широким спектром биологической активности, которая в некоторых случаях раскрыта не в полной мере, а также из-за небольшого количества реакционных центров и низкой полярности молекул их высокий потенциал раскрыт не полностью. Однако биотрансформация терпенов с помощью грибов позволяет либо перевести одни соединения из неактивной формы в активную, либо усилить уже существующее слабо выраженное фармакологическое действие молекул за счет появления в их структуре новых функциональных групп. Оба этих процесса приводят к появлению новых индивидуальных БАВ на основе таких природных соединений, как каурановых дитерпенов [172].

Однако, следует заметить, что результаты многих исследований на предмет оценки противомикробной активности ЭМ и индивидуальных веществ свидетельствуют, что природные ЭМ проявляют более выраженное антибактериальное действие по сравнению со смесью главных БАВ, зачастую полученных синтетическим путем. Это отчасти может быть объяснено наличием второстепенных компонентом или минорных соединений, которые демонстрируют синергический эффект [78]. Таким образом, антимикробная активность зависит от механизмов действия индивидуальных веществ, а также от видов взаимодействия между активными и второстепенными компонентами. Разные терпеноидные соединения ЭМ реагируют с друг с другом либо по принципу усиления, либо снижения антибактериального действия. Существуют четыре разновидности взаимодействия: нейтральный или индифферентный, аддитивный, антагонистический и синергетический. Аддитивный эффект — вид синергизма, при котором эффект действия совместно применяемых веществ равен сумме эффектов действия каждого вещества в отдельности. Антагонизм наблюдается, когда эффект одного или обоих соединений меньше, когда они применяются вместе, чем, когда применяются индивидуально. Синергизм – вид взаимодействия, при котором эффект комбинации превышает сумму эффектов каждого из веществ, взятых по отдельности. Отсутствие взаимодействия определяется как индифферентность [153].

ЭМ представлены разными классами органических соединений: фенолами, альдегидами, кетонами, спиртами, простыми и сложными эфирами, углеводородами. Совместное присутствие в ЭМ таких альдегидов и фенолов, как коричный альдегид, цитраль, карвакрол, эвгенол или тимол в качестве основных веществ, приводит к проявлению самой высокой антибактериальной активности, снижение которой происходит в следующем ряду: ЭМ, содержащие терпеновые

спирты, затем кетоны и сложные эфиры (β -мирцен, α - туйон или геранилацетат). Терпеновые углеводороды обычно индифферентны. Применение монотерпеноидов, содержащих фенольных гидроксил, и группы фенилпропаноидов совместно с другими веществами повышало биоактивность этой смеси [102].

В стоматологии среди индивидуальных веществ наибольшую эффективность в отношении кариеогенных и пародонтопатогенных микроорганизмов проявляют ментол и эвгенол. Ментол – моноциклический терпеноид и основной компонент ЭМ мяты перечной (*Mentha piperita* L.). Он способен подавлять рост как грамположительных, так грамотрицательных бактерий и дрожжевых грибов. Механизм его действия предположительно связан с разрушением мембранных структур, приводящим к потере внутриклеточного содержимого. Ментол является наиболее распространенным компонентом СГПР и используется в качестве ароматизирующей добавки и антибактериального агента, одобренного FDA [157].

Эвгенол – амфипатическое соединение, содержащее фенольный гидроксил. Он является главным компонентом ЭМ гвоздичного дерева (*Eugenia caryophyllis* C. Spreng.). Эвгенол обладает антисептическим, противомикробным, обезболивающим, антиоксидантным, противовоспалительным и сердечно-сосудистым свойствами. Он входит в состав цемента на основе оксида цинка для временного пломбирования зубных полостей или в качестве базы окончательной пломбы. Благодаря наличию фенольного гидроксила, эвгенол проявляет более сильное антибактериальное действие по сравнению с метилэвгенолом, а его совместное применение с линалоолом демонстрирует синергизм двух компонентов [168].

Помимо этих двух наиболее ярких представителей антибактериальных индивидуальных веществ выделяют 1,8-цинеол, терпинен-4-ол, линалоол, β -мирцен, β -кариофиллен и оксид кариофиллена. Их значения МПК в отношении *S. mutans* составляют меньше 500 мкг/мл [108].

Таким образом, ЭМ играют большую роль в развитии современной медицины и стоматологии, в частности. Их применение ассоциируется с такими перспективными направлениями, как фитопрофилактика и фитотерапия. ЭМ и их основные БАВ рассматриваются как в качестве новых природных антибактериальных агентов с высоким профилем эффективности и безопасности, так и фитосубстанций для создания других фармакологически активных соединений с помощью современных методов биотехнологии. Детальное изучение химического состава, механизмов действия и видов взаимодействия между главными и второстепенными компонентами ЭМ поможет обрисовать полную картину их возможного применения как в средствах профилактического, так и лечебного характера. Конкретные значения МПК и МБК самих ЭМ и их главных действующих веществ в отношении основных возбудителей кариеса, гингивита и пародонтита помогут определить оптимальный перечень эфиромасличных компонентов и их количественное содержание в составе СГПР для борьбы с

актуальными стоматологическими заболеваниями. При составлении новых прописей средств индивидуальной гигиены полости рта или редактировании уже ранее существующих с целью повышения их эффективности стоит учитывать, что природные ЭМ обладают лучшей антимикробной активностью по сравнению со смесями синтетических аналогов главных действующих веществ. Этот факт объясняется тем, что сами ЭМ – это грамотно подобранная природой пропись веществ, где качественные и количественные параметры идеально сбалансированы. Обращение потребителей конечной продукции и научного сообщества к натуральным продуктам и средствам на их основе носит глобальный характер.

1.5.1.7. Современные методы анализа эфирных масел по показателям качества действующего вещества/веществ в нормативной документации

ЭМ широко применяются в трех отраслях промышленности: пищевой, парфюмерно-косметической и фармацевтической, каждая из которых имеет свой перечень нормативных документов, регламентирующих качество изготавливаемой ими готовой продукции. Самые строгие требования предъявляет фармацевтическая отрасль, так как ее деятельность в большей степени связана со здоровьем людей. По этой причине далее будут рассмотрены показатели качества и официальные методы испытаний на ЭМ, указанные в ГФ XIII издания, тома II. Согласно впервые введенным ОФС.1.5.1.0001.15 [38] и ОФС.1.5.2.0001.15 [39] ЭМ можно отнести как к *«фармацевтическим субстанциям растительного происхождения»*, так и *«лекарственным средствам растительного происхождения»*. Под первым понятием понимают «стандартизованное лекарственное растительное сырье, а также вещества/вещества растительного происхождения и/или их комбинации, продукты первичного или вторичного синтеза растений, в том числе полученные из культуры растительных клеток, суммы биологически активных веществ растений, продукты, полученные путем экстракции, перегонки, ферментации или другим способом переработки ЛРС, и применяемые для профилактики и лечения заболеваний» [38]. Второй термин включает в себя два понятия: «фармацевтическая субстанция» и «лекарственный препарат». Таким образом, ЭМ может выступать либо в качестве активного действующего вещества в составе ЛС или иной продукции лечебно-профилактического назначения, либо самостоятельного ЛС.

Согласно ОФС.1.4.1.0001.15 «оценку качества ЛП в различных ЛФ проводят, как правило, по показателям качества, характеризующим конкретную ЛФ, а также по показателям качества действующего вещества/веществ и, при необходимости, вспомогательного вещества/веществ данного ЛП («Подлинность», «Количественное определение» и др.)». При этом следует отметить, что «к показателям, которые являются обязательными для оценки качества ЛП независимо от ЛФ, относятся «Подлинность», «Количественное определение»,

«Микробиологическая чистота» (для нестерильных ЛФ), «Стерильность» (для стерильных ЛФ)» [35].

Испытания, которые проводятся в разделе «Подлинность», определяются составом ЛП: действующими, реже вспомогательными веществами. Для оценки подлинности рекомендуется сочетание физико-химических (ВЭЖХ, газовая хроматография (ГХ), ТСХ и др.) с химическими методами анализа [35]. Для ЭМ определение подлинности проводят методом газовой хроматографии в соответствии с требованиями ОФС 1.2.1.2.0004.15 «Газовая хроматография». Также возможно применение метода тонкослойной хроматографии и, при необходимости, других фармакопейных методов. Для установления подлинности ЭМ используют либо относительные времена удерживания отдельных, прежде всего преобладающих и специфичных компонентов, либо проводят сравнение хроматограммы испытуемого масла с хроматограммой стандартного образца масла, которая приводится в ФС или НД, также, как и условия проведения анализа [39].

Испытания, которые проводятся в разделе «Количественное определение», как и в разделе «Подлинность» зависят от состава ЛП: действующих и вспомогательных веществ. Для количественного определения рекомендуется использовать физико-химические (ВЭЖХ, спектроскопия) и химические методы анализа (титриметрия), допускается применение других фармакопейных методов анализа [35]. Для ЭМ в раздел «Количественное определение» ФС или НД должен быть включен метод ГЖХ или иной для количественного определения преобладающих и/или специфичных компонентов эфирного масла и установлены нормы их содержания, а процентное соотношение основных компонентов относительно друг друга устанавливаются методом нормализации [39].

Выбор хроматографических методов анализа в качестве фармакопейных для контроля качества ЭМ объясняется несколькими причинами [33, 77]:

1) Из определения ЭМ следует, что это многокомпонентная смесь, а хроматография предназначена для разделения смесей веществ на основании их многократного перераспределения между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения.

2) ЭМ представляют собой смесь летучих душистых веществ, с целью определения которых используют метод газовой хроматографии в обоих обязательных разделах, характеризующих химический состав исходной смеси. «ГХ – метод разделения летучих соединений, основанный на различии в распределении компонентов анализируемой смеси в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз, где в качестве подвижной фазы выступает газ (газ-носитель), а в качестве неподвижной фазы – твердый сорбент или жидкость, нанесенная на твердый носитель или внутренние стенки колонки». Так как

большая часть ЭМ представлена летучими фракциями веществ, то в качестве основного фармакопейного метода для качественного и количественного анализа была выбрана ГХ, а для нелетучих фракций используют жидкостную хроматографию (ЖХ).

3) Одновременно с момента увеличения спроса на натуральные ЭМ вырос риск появления фальсифицированной продукции, отличительной особенностью которой стало добавление более дешевых и низкого качества компонентов в состав ЭМ. Этот факт говорит о целесообразности и неизбежности применения ГХ с целью оценки чистоты, установления подлинности и количественного определения преобладающих активных веществ ЭМ.

Таким образом, можно с уверенностью сказать, что выбор метода основан на физико-химических свойствах исследуемого образца. Универсальность хроматографических методов анализа заключается в том, что они применяются как на этапе пробоподготовки (очистки анализируемого компонента или смеси компонентов от сопутствующих примесей), так и в ходе непосредственного качественного и количественного анализов. При этом идентификация компонентов проводится по параметрам их удерживания в сравнении со стандартными образцами(свидетелями). Определение содержания искомым соединений или их групп в исходной смеси после хроматографического разделения проводится другими физико-химическими методами в зависимости от способа детекции. Газожидкостная хроматография – разновидность ГХ. Ее характерной особенностью является жидкость, нанесённая на твёрдый носитель и выступающая в качестве неподвижной фазы [33].

Хроматографические методы анализа относятся к современным методам контроля качества благодаря следующим отличительным особенностям:

- 1) полному разделению, идентификации и определению содержания интересующих веществ за минимально затраченное время;
- 2) возможности быстрого проведения анализа в нескольких повторных измерениях (повторностях);
- 3) высокой разрешительной способности, которая увеличивает достоверность идентификации компонентов смеси;
- 4) возможности определения следовых количеств исследуемых веществ, что обеспечивается за счет используемых колонок, чаще всего капиллярных;
- 5) небольшой размер проб, требуемый для проведения анализа;

В разделе «Количественное определение» на ЭМ сказано о возможности использования иного определения преобладающих и/или специфичных компонентов, например, газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ-МС). Согласно впервые введенной ОФС.1.2.1.1.0008.15 в ГФ XIII издания [32] «метод масс-спектрометрии – метод качественного и количественного анализа ЛС, основанный на прямом измерении отношений массы к числу элементарных

положительных или отрицательных зарядов ионов (m/z) в газовой фазе, полученных из испытуемого вещества». В статье также говорится о важности получаемой в результате масс-спектрометрического анализа информации: она носит качественный и количественный характер (с использованием внешнего или внутреннего стандартов), а также включает в себя определение молекулярных масс соединения по молекулярному иону и структуры фрагментов определяемых молекул. Таким образом, данные проводимых испытаний позволяют однозначно установить химическую структуру. Пределом обнаружения составляют от пикомоль [пмоль (10^{-12})] до фемтомоль [фмоль (10^{-15})]. Разновидности метода отличаются способом ввода образца в прибор, механизмом образования ионов (типом ионного источника) и способом разделения ионов по отношению массы к заряду (типом масс-анализатора). Одной из таких разновидностей является ГХ-МС, где разделение компонентов анализируемой смеси проводят при помощи капиллярных колонок газового хроматографа, чей конец непосредственно вводится в ионный источник масс-спектрометра. Метод газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием за последние десять лет получил исключительное развитие. Причиной этому служит то, что по мнению специалистов, это самая надежная идентификация неизвестных соединений в сложных смесях, а наличие библиотеки масс-спектров до 450000 ед. и применение времяпролетных масс-спектрометров, предназначенных для высокопроизводительного анализа сложных молекулярных систем, лишь служит тому подтверждением. Согласно ОФС.1.2.1.1.0008.15 существует пять официальных областей применения масс-спектрометрии:

- установление подлинности лекарственных веществ за счет фрагментированного масс-спектра, в свою очередь являющегося «отпечатками пальцев» химического строения. Масс-спектр высокого разрешения позволяет определить атомный состав (брутто-формулу) по точной массе;
- количественное определение фармацевтических субстанций и примесей в лекарственных формах при помощи стандартных образцов. Пик на хроматограмме идентифицируют по масс-спектру, а интегрирование по площадям пиков избранных ионов или пиков избранных реакций образования конкретного иона позволяет количественно определять компонент при неполном разделении пиков на хроматограмме;
- идентификация примесей и установление неизвестной структуры;
- количественное определение следовых количеств веществ в фармакокинетике и метаболомике;
- количественное определение более 70 элементов с пределами измерения от 10 до 0,1 ppt (*parts per trillion*) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Также стоит отметить такие преимущества масс-спектрометрии (МС), как высокая чувствительность, исключительно малый объем анализируемой смеси для проведения

испытания, крайне высокая скорость получения данных (скорость сканирования), огромное количество данных по окончанию эксперимента, относительная простота конструкции прибора и невысокая стоимость в сравнении с полученным объемом готовой информации [77].

Таким образом, широкая распространенность таких современных физико-химических методов, как ГХ и ГХ-МС, и включение их в виде новых или отредактированных общих фармакопейных статей в состав ГФ XIII издания говорит о совершенствовании и разработке новых методик в рамках фармацевтического анализа по различным критериям: сокращению трудоемкости, быстрому отклику при мониторинге по типу on-line, надежности, селективности определения и повышению его чувствительности, снижению финансовых затрат, повышению производительности и т. д.

Безусловно, ГФ имеет законодательный характер в фармацевтической промышленности, так как определяет контрольные функции: на основании данных анализа делается вывод о соответствии лекарственного средства требованиям фармакопеи и решается вопрос о возможности его применения в медицинской практике. Но помимо ГФ в стране действуют ряд национальных стандартов, в которых также отражены показатели качества на разного рода продукцию и методы их контроля.

Качество ЭМ регламентируется целым перечнем стандартов, однако в рамках данной диссертации будут рассмотрены лишь несколько из них, где приведены показатели качества, характеризующие состав ЭМ, и соответствующие методы анализа. Разработка, опубликование и применение этих документов – это результат *стандартизации*, деятельности, направленной на достижение оптимальной степени упорядочения в определенной области посредством установления положений для всеобщего и многократного применения в отношении реально существующих и потенциальных задач [45]. Межгосударственные стандарты ГОСТ ISO 7609-2014 «Масла эфирные. Анализ методом газовой хроматографии на капиллярных колонках. Общий метод» [12], ГОСТ ISO 11024-1-2014 «Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 1. Подготовка хроматографических профилей для представления в стандартах» [8], ГОСТ ISO 22972-2014 «Масла эфирные. Анализ методом газовой хроматографии на хиральных капиллярных колонках. Общий метод» [10], идентичные международным стандартам ISO и введенные в действие в качестве национальных стандартов в РФ и других странах Содружества Независимых Государств (СНГ) с 1 января 2016 года, подтверждают актуальность и целесообразность применения ГХ как основного современного метода контроля качества ЭМ. Из определения ЭМ следует, что они представляют многокомпонентные смеси, однако определение всех их составляющих является сложной, крайне трудоемкой и ненужной задачей. По этой причине в ГФ XIII издания указано наличие преобладающего класса БАВ, терпенов и их производных, определение отдельных соединений

которых является информативным и достаточным для оценки качества конкретных ЭМ. Примерами подобных ситуаций служат две частные статьи в ГФ X издания: 475 «Масло эвкалиптовое» (*Oleum Eucalypti*) и 477 «Масло мяты перечной» (*Oleum Menthae piperitae*). Показатели качества масел, заложенные в данных статьях, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели качества статей 475 «Масло эвкалиптовое» (*Oleum Eucalypti*) и 477 «Масло мяты перечной» (*Oleum Menthae piperitae*) в ГФ X издания

Показатель качества ЭМ	475 «Масло эвкалиптовое» (<i>Oleum Eucalypti</i>)	477 «Масло мяты перечной» (<i>Oleum Menthae piperitae</i>)
Описание	легкоподвижная прозрачная жидкость	легкоподвижная прозрачная жидкость
Растворимость	легко растворимо в 95% спирте	легко растворимо в 95% спирте
Плотность	0,910 – 0,930	0,900 – 0,910
Угол вращения	от 0 ⁰ до +10 ⁰	не менее – 18 ⁰
Показатель преломления	1,458 – 1,470	1,459 – 1,470
Кислотное число	–	не более 1,30
Эфирное число	–	не менее 11,5
Содержание влаги	–	не допускается
Количественное определение	цинеола не менее 60%	ментола не менее 46%

Из данных таблицы 1 видно, что ЭМ практически идентичны по определяемым показателям качества (описание, растворимость, угол вращения, показатель преломления, количественное определение, хранение), за исключением некоторых (кислотное число, эфирное число, содержание влаги), которые указаны исключительно для масла мяты перечной. В разделе «Количественное определение» указана методика по определению содержания БАВ и их нижних границ нормы. Так для листьев эвкалипта шарикового (*Eucalyptus globulus* Labill.) и других видов эвкалипта определяют содержание цинеола, которое должно быть не менее 60% по объему. А для листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) данная процедура проходит в 2 этапа: 1) определение содержания свободного ментола, которое должно быть не менее 46%; 2) суммирование процентного содержания свободного ментола и процентного содержания сложных эфиров, в результате чего получают общее содержание ментола, которое должно быть не менее 50% [14]. Таким образом, можно сказать, что определение качества ЭМ проводят путем установления содержания его основного действующего компонента. В этой связи отличительной особенностью ГОСТ ISO 11024-1-2014 является использование понятийного аппарата, включающего такие термины, как репрезентативные компоненты, характерные компоненты,

типичная хроматограмма, хроматографический профиль. Разбор указанных выше понятий происходит на примере химического состава ЭМ герани разных сортов, что явно говорит о необходимости соответствующего стандарта на данное масло. В соответствии с ГОСТ ISO 11024-1-2014 под *репрезентативными компонентами* понимают компоненты, присутствующие во всех пробах эфирного масла, вне зависимости от доли. Так к последним можно отнести геранилформиат, изоментон, цитронеллол, гераниол и другие вещества ЭМ герани. Под *характерными компонентами* понимают один или более репрезентативных компонентов, концентрация которых является характерной для данного эфирного масла, при этом концентрация может быть нулевой. Так в *Africa geranium* гвайа-6,9-диен присутствует в незначительном количестве, а в *Bourbon geranium* – в большом; 10-эпи-гамма-эудесмол отсутствует в *Bourbon geranium* и присутствует в *Africa geranium*. Под *хроматографическим профилем* понимают перечень компонентов эфирного масла, выбранных из репрезентативных и характерных, а также предельные значения концентрации каждого из них, и, возможно, отношения таких концентраций. «Он также является одной из характеристик ЭМ, которая наряду с физико-химическими характеристиками позволяет выполнить оценку его качества, которая определяется на последнем этапе работы над стандартом на ЭМ. По хроматографическому профилю не определяют действительную концентрацию компонентов, а только оценивают их относительные доли», следовательно, его внедрение связано с качественным анализом. Для его разработки необходимо провести анализ проб ЭМ с помощью газовой хроматографии на капиллярной колонке с пламенно-ионизационным детектором. Результатом данного аналитического исследования станут выбранные экспериментальным путем репрезентативные и характерные компоненты, которые в дальнейшем позволят отличить чистые эфирные масла, имеющие хорошие органолептические характеристики, от загрязненных, или от масел других биологических видов, или масел растений, произрастающих в разных климатических условиях [2, 8].

Следует отметить, что попытки выделения указанных выше веществ, позволяющих надежно идентифицировать как ЛРС, так и препараты на его основе, предпринимались в фармацевтических исследованиях [22, 44], однако до настоящего времени предлагаемые авторами термины: индикаторные компоненты или вещества-маркеры не нашли широкого распространения в научной литературе и нормативной документации. Под индикаторными компонентами понимают вещества, специфичные для данного вида растительного сырья и используемые для оценки его качества и подлинности. В свою очередь вещества-маркеры подразделяются на приоритетные и специфические. Большинство маркеров относятся к первой группе согласно четырем основным критериям: 1) значительному содержанию (от десятых долей до десятков процентов); 2) биологической активности; 3) возможности перехода в продукты

переработки ЛРС; 4) наличие стандартных образцов для анализа [44]. Также в диссертации Кузьменко А.Н. есть раздел «Стандартизация эфирных масел», в котором также рекомендуется включить в частную статью на конкретное ЭМ описание метода количественного определения одного или нескольких компонентов ЭМ (веществ-маркеров) и установить нормы их содержания [2, 22]. Таким образом, определение преобладающих, репрезентативных, или характерных веществ как в самом ЭМ, так и в ЛС или продукции на его основе является информативным показателем качественного анализа.

В ГОСТ ISO 7609-2014 приведен общий метод анализа ЭМ (ГХ на капиллярных колонках) для определений содержания именно специфических составляющих и/или исследования хроматографического профиля. С его помощью проводят идентификацию различных компонентов с помощью индексов удерживания и количественное определение специфичных компонентов путем измерения площадей пиков [12]. В ГОСТ ISO 22972-2014 указан тот же метод только на хиральных капиллярных колонках с целью определения удельного энантиомерного избытка или разделения хиральных соединений, содержащихся в ЭМ. Существование энантиомерных форм связано с наличием у молекулы хиральности, свойства не совпадать в пространстве со своим зеркальным отражением. Большинство хиральных природных соединений существует в виде одного энантиомера. Понятие энантиомерии играет важную роль в фармации, поскольку разные энантиомеры лекарственных веществ, как правило, имеют различную биологическую активность [10]. В ближайшее время, 1 января 2017 года, вступит в силу принятый ГОСТ ISO 11024-2-2015. «Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 2. Применение хроматографических профилей проб эфирных масел», в котором описаны общие рекомендации по определению соответствия хроматографического профиля пробы эфирного масла контрольному хроматографическому профилю, представленному в стандарте на это масло [9]. Таким образом, можно сказать, что ГХ – официально признанный современный фармакопейный метод анализа ЭМ, а также метод стандартов международного, регионального и национального значения. ГХ-МС также относится к современным фармакопейным методом контроля качества, которые могут быть использованы при качественном и количественном анализе ЭМ. Однако, главным условием для проведения мер по контролю качества конкретного ЭМ является предварительное изучение его химического состава с целью выявления репрезентативных и характерных компонентов для исследования хроматографического профиля как одного из показателей качественного анализа, а также основного действующего вещества для его последующего количественного определения.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. Применение СГПР на основе антимикробных растительных добавок (экстрактов, эфирных масел или индивидуальных БАВ) – эффективная и безопасная мера профилактики

наиболее актуальных заболеваний современной стоматологии: кариеса и ВЗП (гингивита и пародонтита) за счет их способности воздействовать на биопленки полости рта.

2. Особое место среди основных СГПР отводят зубным пастам и ополаскивателям на основе природных антимикробных БАВ лекарственных растений, преимущественно эфирносов. Это объясняется сопоставимой, а в некоторых случаях лучшей эффективностью по сравнению с традиционными СГПР, содержащими фторид-ионы и антисептики синтетического происхождения (хлоргексидин и триклозан), а также высоким профилем безопасности.

3. Наравне с хлоргексидином, триклозаном и фторид-ионами эфирные масла выделяют как группу противомикробных веществ природного происхождения, вводимых в состав СГПР. Включение в состав СГПР лекарственных растений в виде эфирных масел на растительной основе – это наилучший вариант проявления их лечебно-профилактических свойств.

Таким образом, зубные пасты и ополаскиватели на основе эфирных масел являются актуальным объектом исследования, так как их применение связано с решением проблем современной стоматологии в рамках проводимой программы профилактики государств по всему миру при помощи современных эффективных и безопасных средств индивидуальной гигиены полости рта на основе фитосубстанций. Использование данной категории СГПР приобретает особую актуальность у детей в возрасте до 10 лет, когда риск возникновения флюороза на фоне чистке зубов фторсодержащими зубными пастами очень высок, а риск развития нежелательных реакций на фоне применения СГПР на основе хлоргексидина и триклозана можно избежать.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Объекты исследования

В качестве объектов исследования были выбраны:

1. лечебно-профилактические добавки эфирномасличных растений, которые вводят в состав ополаскивателя для полости рта и профилактической зубной пасты серии Professional «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs/Лечебные травы» согласно прописи, в виде:

- водно-спиртового экстракта ромашки (наименование производителя и номер партии являются конфиденциальной информацией компании SPLAT);
- водно-спиртового экстракта шалфея (наименование производителя и номер партии являются конфиденциальной информацией компании SPLAT);
- эфирного масла герани Bourbon (Франция);

2. ополаскиватель для полости рта серии Professional «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (ГОСТ Р 51577-2000, ТР ТС 009/2011). 5 образцов одной серии (011119 что означает № партии/ месяц/ год соответственно).

Ополаскиватель «Лечебные травы» представляет собой раствор для местного применения изумрудного цвета, в состав которого согласно прописи входят такие вспомогательные вещества, как вода очищенная, глицерин, диацетат глутамата тетранатрия, спирт, бензиловый спирт, полиглицерил-4 лаурат / себацат, полиглицерил-6 каприлат / капрат, коко-сульфат натрия, бензоат натрия, ароматизатор, сорбат калия, карбоксиметилцеллюлоза, лимонная кислота, папаин, мальтитол, лактат кальция, гидроксид натрия, тиоцианат калия, лактоферрин, лактопероксидаза, глюкооксидаза, пентаацетат глюкозы, CI 75810 (медный комплекс хлорофиллина – натуральный краситель зеленого цвета), без фторидов и следующие лечебно-профилактические добавки:

- водно-спиртовые экстракты цветков ромашки (*Chamomillae recutitae flores*) и листьев шалфея (*Salviae officinalis folia*), экстракт стевии медовой (*Folia Stevia rebaudiana*), экстракт корней солодки голой (*Radices Glycyrrhizae*), экстракт цветков боярышника (*Flores Crataegus monogyna*), экстракт плодов облепихи (*Fructus Hippophaes rhamnoidis*).
- эфирное масло травы герани (*Olia Pelargonii graveolensis*), эфирное масло из коры камфорного дерева (*Olia Cinnamomi camphorae*).

3. профилактическая зубная паста серии Professional «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (ГОСТ 7983-99). 5 образцов каждой серии (В 01/01/14, В 05/06/16, 04/10/19 что означает код изготовителя/ № партии/ месяц/ год соответственно).

Зубная паста «Лечебные травы» по своей консистенции представляет собой гель изумрудного цвета, в состав которого согласно прописи образцов В 01/01/14, В 05/06/16 входят

такие вспомогательные вещества, как сорбитол (сорбит), гидрат диоксида кремния, вода очищенная, ПЭГ-8 (полиэтиленгликоль), лаурилсульфат натрия, лактат кальция, ксантановая камедь (эмульгатор пищевой E-415), фторид натрия, сахаринат натрия (E954), натрия метилпарабен, лимонен, ароматизатор и следующие лечебно-профилактические добавки:

- водно-спиртовые экстракты цветков ромашки (*Chamomillae recutitae flores*) и листьев шалфея (*Salviae officinalis folia*), пропиленгликолевый экстракт плодов боярышника (*Fructus Crataegus monogyna*), обеспечивающие комплексное антибактериальное, противовоспалительное, укрепляющее и тонизирующее действие на десны;
- пропиленгликолевый экстракт плодов облепихи (*Fructus Hippophaes rhamnoidis*), оказывающий выраженное антиоксидантное действие благодаря высокому содержанию витаминов А, С и Е;
- эфирное масло травы герани (*Olia Pelargonii graveolensis*), проявляющее антисептические, антиоксидантные и антибактериальные свойства;
- фторид-ионы в концентрации 1000 ppm (0,1%), обладающие противокариозным действием;

Отличия прописи зубной пасты «Лечебные травы», выпущенной под номером 04/10/19, от прописи аналогичных паст, выпущенных под номерами В 01/01/14, В 05/06/16 заключаются в следующих изменениях:

- в состав введены следующие вещества: гидрогенизированный гидролизат крахмала, коко-сульфат натрия, монофторфосфат натрия (Na_2PFO_3), пропиленгликоль, папаин, СІ 19140 (азокраситель желтого цвета синтетического происхождения – тартразин), СІ 42090 (азокраситель голубого цвета синтетического происхождения – бриллиантовый синий).
- исключены: сорбитол (сорбит), лаурилсульфат натрия, фторид натрия (NaF).

При оценке стабильности были использованы пасты, хранившиеся в условиях, рекомендованных производителем, в течение всего срока годности.

Следует отметить информацию, указанную на упаковке зубной пасты «Лечебные травы» (маркировка): в пасте отсутствуют такие антибактериальные компоненты, как триклозан и хлоргексидин; она обладает клинически доказанными кровоостанавливающим (66,5%), противовоспалительным (28,5%) и очищающим эффектами, благодаря входящим в ее состав лечебно-профилактическим добавкам. Это обстоятельство позволяет отнести эту конкретную зубную пасту к серии Professional, серии средств для эффективного профессионального ухода за полостью рта в домашних условиях, где каждое средство направлено на решение конкретной задачи (обеспечение профилактики кровоточивости десен и воспалений полости рта, то есть ВЗП).

Из всех лечебно-профилактических добавок, входящих в состав зубной пасты «Лечебные травы», для анализа были выбраны самые популярные экстракты эфиромасличных растений (ромашки и шалфея), которые нашли широкое применение для лечения и профилактики ВЗП в качестве самостоятельных лекарственных средств. Они успешно используются в стоматологии для снятия воспаления, для предотвращения высвобождения гистамина, в качестве антисептических, противомикробных, противогрибковых, противобактериальных, противовирусных и анальгезирующих средств. Они также эффективны при контроле микробной флоры зубного налета при гингивите и пародонтите [48]. По результатам анализа ассортимента аптечной сети ООО «Самсон-Фарма» на предмет выявления Топ-5 ЛС для лечения и профилактики ВЗП было обнаружено, что экстракты фармакопейного сырья: цветков ромашки аптечной (*Chamomillae recutitae flores*) и листьев шалфея лекарственного (*Salviae officinalis folia*) входят в состав жидкого экстракта «Стоматофит» для местного применения компании АО «РНУТОРНАРМ КЛЕНКА», Польша; первый экстракт является одним из активных веществ жидкого экстракта «Ротокан» для приема внутрь и местного применения производства ОГУП «Кировская фармацевтическая фабрика», Россия; второй экстракт является главным и единственным действующим веществом раствора спиртового 1% «Сальвин-виф» для местного применения производства ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия. Анализ рецептуры указанных средств показывает, что все они содержат в значительной степени ЛРС, представленное эфирномасличными растениями [48]. В настоящее время опыт терапевтической стоматологии по использованию ЛРП, блокирующих развитие микроорганизмов, ответственных за формирование зубного налета, активно используются компаниями-производителями средств гигиены.

Третья лечебно-профилактическая добавка представлена ЭМ герани Bourbon (Франция), получаемое методом аквадистилляции из нефармакопейного сырья травы пеларгонии ароматной (*Herba Pelargonii graveolensis*). В зарубежной литературе содержатся данные о разнообразном фармакологическом (адаптогенном; антидепрессантном; ранозаживляющем и ускоряющем процессы рубцевания тканей; фитогормональным; противоотечном, улучшающем работу лимфатической системы; болеутоляющем, успокоительном; седативным; общеукрепляющем; мочегонном; кровоостанавливающим; антисептическом; противогрибковым; антиоксидантном, противоглистном, противоплазмодном, инсектицидном, противоопухолевом) действии эфирного масла герани [48]. Но при лечении гингивита и пародонтита особую актуальность приобретают его противовоспалительные, вяжущие, антимикробные (уменьшение зубного налета) свойства.

Химический состав указанных выше лечебно-профилактических добавок с позиции главных действующих веществ подробно описан в разделе «Самые популярные и перспективные эфиромасличные растения с антибактериальной активностью». Исследуемые образцы

ополаскивателя, зубной пасты, водно-спиртовых экстрактов и ЭМ были предоставлены фирмой-производителем ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА».

Для оценки объектов исследования с позиции фармацевтических субстанций растительного происхождения и лекарственных препаратов и проведения сравнительного исследования были использованы следующие лекарственные препараты в качестве контрольных образцов:

ЛРС «Ромашки цветки. Chamomillae flores» производства АО «Красногорсклексредства» в пачке 50 г, серии 020313 было куплено в аптеке.

ЛРС «Шалфея листья. Salviae folia» производства ЗАО «Ст.-Медифарм» в пачке 50г, серии 041015 было куплено в аптеке.

2.2. Материалы и методы

В работе использовались следующие нормативные документы:

- Федеральный закон от 12.04.2010 №61-ФЗ (ред. от 29.12.2015) «Об обращении лекарственных средств». Опубликован в следующих официальных изданиях: «Парламентская газета» от 16.4.2010г., «Собрание законодательства Российской Федерации» от 2010г., N 16, ст. 1815, «Российская газета» от 14.4.2010г. Действует. Принят 24.03.2010.
- Федеральный закон о пищевых продуктах, лекарственных средствах и парфюмерно-косметических товарах (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act, FD&C Act). Sec. 201(i). sec. 201(g)(1). Действует. Принят 13.03.2013.
- Директива 2001/83/ЕС Европейского парламента и Совета ЕС от 6 ноября 2001 г. О своде законов Сообщества в отношении лекарственных препаратов для человека. Действует. Дата введения: 28.11.2001
- Директива 76/768/ЕЕС «Безопасность и качество парфюмерно-косметической продукции». Заменен на Регламент №1223/2009. Дата введения: 27.09.1976.
- Технический регламент Таможенного союза «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» (ТР ТС - 009 - 2011). Действует. Принят 23.09.2011.
- Регламент №1223/2009 Европейского парламента и Совета ЕС от 30 ноября 2009г. в отношении Косметической Продукции. Действует. Дата введения: 11.07.2013.
- ГОСТ 14618.5-78 «Масла эфирные, вещества душистые и полупродукты их синтеза. Газохроматографический метод анализа». Действует. Дата введения: 01.01.1980.
- ГОСТ ISO 356-2014 «Масла эфирные. Подготовка проб для испытаний». Действует. Дата введения: 01.01.2016.
- ГОСТ ISO 7609-2014 «Масла эфирные. Анализ методом газовой хроматографии на капиллярных колонках. Общий метод». Действует. Дата введения: 01.01.2016.

- ГОСТ ISO 11024-1-2014 «Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 1. Подготовка хроматографических профилей для представления в стандартах». Действует. Дата введения: 01.01.2016.
- ГОСТ ISO 11024-2-2015. «Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 2. Применение хроматографических профилей проб эфирных масел». Принят. Дата введения: 01.01.2017.
- ГОСТ 7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия». Действует. Дата введения: 01.01.2001.
- ГОСТ Р 51391-99 «Изделия парфюмерно-косметические. Информация для потребителя. Общие требования». Отменен. Дата введения: 01.12.2000.
- ГОСТ Р 51577-2000 «Средства гигиены полости рта жидкие. Общие технические условия». Действует. Дата введения: 01.07.2001.
- Национальный стандарт Индии IS 6356-2001 «Зубная паста. Спецификация». Действует.
- ОФС.1.5.1.0001.15 «Лекарственное растительное сырье. Фармацевтические субстанции растительного происхождения». Вводится впервые. ГФ XIII издания, Том II, стр. 265-271.
- ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла». Взамен ГФ X, ст. 471, ст. ГФ XI, вып. 1. ГФ XIII издания, Том II, стр. 336-343.
- ОФС.1.4.1.0001.15 «Лекарственные формы». Вводится впервые. ГФ XIII издания, Том II, стр. 10-19.
- ОФС.1.4.1.0008.15 «Мази». Взамен ГФ X, ст.709, ст. ГФ XI, вып.2. ГФ XIII издания, Том II, стр. 67-73.
- ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты». Взамен ГФ X, ст.253, ст. ГФ XI, вып.2. ГФ XIII издания, Том II, стр. 134-137.
- ОФС 1.2.1.2.0004.15. «Газовая хроматография». Взамен ст. ГФ XI, вып.1. ГФ XIII издания, Том I, стр. 491-495.
- ОФС.1.2.1.1.0008.15 «Масс-спектрометрия». Вводится впервые. ГФ XIII издания, Том I, стр. 408-423.
- ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». Вводится впервые. ГФ XIII издания, Том I, стр. 222-234.
- ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Взамен ст. ГФ XI, вып.1. ГФ XIII издания, Том I, стр. 235-264.
- ФС 475 «Масло эвкалиптовое» (*Oleum Eucalypti*). ГФ X, стр.486-487.

- ФС 477 «Масло мяты перечной» (*Oleum Menthae piperitae*), ГФ X, стр.488-489.

Все используемые нормативные документы находятся в открытом доступе на следующих официальных сайтах:

- Официального интернет-портала правовой информации;
- «Парламентская газета»;
- «Собрание законодательства Российской Федерации»;
- «Российская газета»;
- Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA);
- Официального журнала Европейского союза (Official Journal of the European Union- EUR-Lex);
- Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии (РОССТАНДАРТ);
- Международной организации по стандартизации (ISO);
- Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В работе использовались следующие реактивы:

- Спирт 95 % [64-17-5]. C_2H_6O . (М.м. 46,07). Этанол 95% – бесцветная, прозрачная, летучая, воспламеняющаяся жидкость; гигроскопична. Смешивается с водой и метиленхлоридом. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с.1335.
- Метиленхлорид [75-09-2]. CH_2Cl_2 . (М.м. 84,93). Дихлорметан – бесцветная жидкость. Умеренно растворим в воде, смешивается со спиртом 96% и эфиром. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с.1246.
- Натрия сульфат безводный [7757-82-6] Na_2SO_4 . (М.м. 142,04). Сульфат натрия – белый порошок. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с.1275.
- Фенантрен [85-01-8] $C_{14}H_{10}$. (М.м. 178,22). Фенантрен – кристаллы белого цвета. Практически нерастворим в воде, легко растворим в эфире, умеренно растворим в спирте 96%. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с.1370.
- Нафталин [91-20-3] $C_{10}H_8$. (М.м. 128,16). Нафталин – кристаллы белого цвета. Практически нерастворим в воде, легко растворим в эфире, растворим в спирте 96%. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с.1280.
- Эфир [60-29-7]. $C_4H_{10}O$. (М.м. 74,12). Оксидиэтан. Эфир диэтиловый. Прозрачная, бесцветная, летучая, очень подвижная, легко воспламеняющаяся жидкость; гигроскопична. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1413.

- Петролейный эфир. [8032-32-4]. Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость, не флюоресцирует. Практически нерастворима в воде, смешивается со спиртом 96%. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1296.

- Фенолфталеин. [77-09-8]. $C_{10}H_{14}O_4$. (М.м. 318,31). 3,3-Бис(4-гидроксифенил)-2-бензофуран-1 (ЗН)-он. Порошок от белого до желтовато-белового цвета. Практически не растворим в воде, растворим в спирте 96%. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1375.

- Калия гидроксид. [1310-58-3]. КОН. (М.м. 56,11). Гидроксид калия.

Белые куски, цилиндрические палочки или гранулы с кристаллической структурой на изломе. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96%, практически нерастворим в эфире. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1193.

- Уксусная кислота ледяная. $C_2H_4O_2$. (М.м. 60,05). Уксусная кислота. Содержит не менее 98,8 (м/м) $C_2H_4O_2$. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1369.

- Хлороформ. [67-66-3]. $CHCl_3$. (М.м. 119,38). Трихлорметан. Прозрачная, бесцветная тяжелая жидкость с характерным запахом. Масло растворим в воде, смешивается со спиртом 96%. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1392.

- Калия йодида насыщенный раствор. Насыщенный раствор калия йодида в воде, свободной от углерода диоксида, должен содержать нерастворенные кристаллы. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1196.

- Натрия тиосульфата раствор 0,1М. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1277.

- Крахмал растворимый. [9005-84-9]. $(C_6H_{10}O_5)_n$. (М.м. $n \cdot 162,14$). Порошок белого или слегка кремового цвета. ГФ XIII издания, Том I, раздел «Реактивы», с. 1215.

- *Стандартные образцы* (СО): β -фарнезен (Sigma-Aldrich кат. №73492), бисаболола оксид А (Sigma-Aldrich кат. №59761), α -пинена (Sigma-Aldrich кат. №80605), β -пинена (Sigma-Aldrich кат. №80607), лимонен (Sigma-Aldrich кат. №62118), линалоол (Sigma-Aldrich кат. №L2602), камфоры (Sigma-Aldrich кат. №148075), борнилацетат (Sigma-Aldrich кат. №B-6759), цимол (Sigma-Aldrich кат. №C121452), цинеол (Sigma-Aldrich кат. №C-8144), терпинен (Sigma-Aldrich кат. №86476), борнеол (Sigma-Aldrich кат. №B-6759), цитронеллол (Sigma-Aldrich кат. №W230901), гераниола (Sigma-Aldrich кат. №48798), гераниаль (Sigma-Aldrich кат. №43318).

- *Внутренний стандарт* был предоставлен лабораторией на кафедре аналитической химии при МГУ им. М.В. Ломоносова. Внутренний стандарт представляет собой раствор фенантрена и пердейтеронафталина в дихлорметане (концентрация фенантрена 1мг/мл, пердейтеронафталина 1мг/мл).

Все используемые реактивы имели степень чистоты, соответствующую «ЧДА» и/или «для ГХ».

Для расчетов применялась программа SigmaPlot 10 (США) и Excel 2013 (Microsoft, США).

Качественный анализ лечебно-профилактических добавок и зубной пасты компании SPLAT «Лечебные травы», количественное определение гераниола в исследуемых образцах эфирного масла герани и указанной зубной пасты, а также оценку стабильности зубной пасты методом газовой хроматографии (ГХ) проводили на газовом хроматографе Кристаллюкс-4000М (Мета Хром, Россия) при следующих условиях, отраженных в таблице 2.

Таблица 2 – Хроматографические условия ГХ-анализа

Колонка	капиллярная кварцевая колонка HP-5ms, 30 м × 0,25 мм, 0,25 мкм, производитель Agilent Technologies, США. внутри привитая фаза: 5% фенил-95%- метилполисилоксан
ПФ	азот
Расход газов-носителя	30 см ³ /мин – 30 см ³ /мин – 60 см ³ /мин
Температура испарителя	200°C
Градиент температуры колонки	от 100 °С до 150 °С, нагрев 5 °С/мин °С
Давление на капиллярной колонке	1 атм
Детектор	ПВД (пламенно-ионизационный детектор)
Температура детектора	250°C
Скорость потока водорода	35 см ³ /мин
Скорость потока воздуха	350 см ³ /мин
Объем пробы	1 мкл

Качественный анализ лечебно-профилактических добавок, зубной пасты компании SPLAT «Лечебные травы», а также количественное определение гераниола в исследуемой указанной зубной пасты методом газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) проводили на хромато-масс-спектрометре «Pegasus 4D» (фирмы «LECO» (США)) при следующих условиях, отраженных в таблице 3.

Таблица 3 – Хроматографические условия ГХ-МС анализа

Колонка	капиллярная кварцевая колонка SPB-5, 30 м × 320 мкм, 0,25 мкм, производитель Agilent Technologies, США. внутри привитая фаза: 5% фенил-95%-метилполисилоксан
ПФ	гелий
Скорость потока	1мл/мин
Температура испарителя	230°C
Программирование температуры при анализе	нагрев 50°C в течение 2мин., нагрев до 280°C с градиентом 20°C /мин.
Ионный источник	электронная ионизация, 70 эВ
Детектор	масс-спектрометр
Температура детектора	270°C
Объем пробы	1мкл
Метод введения пробы и его параметры	инжекция, 1мкл, сплит 1/10
Систему обработки данных	ChromaTOF

Лабораторная посуда: цилиндр из прозрачного бесцветного стекла диаметром 3см, фильтровальная бумага длиной 12 см и шириной 5 см, цилиндр вместимостью 30 мл с притертой пробкой, термостат, бюретка вместимостью 25 мл, плоскодонная колба вместимостью 100 мл, 1000 мл, часовое стекло, выпарительная чашка диаметром 7 см, эксикатор с кальцием хлоридом безводным, коническая колба с притертой пробкой вместимостью 50 мл.

Взятие навесок осуществляли при помощи аналитических весов «RV214» (Ohaus, США). Для пробоподготовки применялись: ультразвуковая баня (Advantage Lab, Бельгия) мощностью 22кГц, фильтры обеззоленные ФМ «Синяя лента» (ООО «Бавер», Россия) ТУ 2642-001-13927158-2003, роторный испаритель с водяной баней N-1100SW (EYELA Co Ltd., Япония).

Плотность измеряли на плотномере DA-100M фирмы «Mettler-Toledo GmbH», Швейцария. Температуру затвердевания определяли на приборе Жукова с термометром, Россия. Угол вращения α плоскости поляризации определяли с помощью поляриметра автоматического AA-10 фирмы «Optical Activity Ltd», Великобритания, при длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм) и при температуре 20°C. Показатель преломления определяли с помощью рефрактометра RL-3 (производитель «PZO», Польша, оптика рефрактометра фирмы «Carl Zeiss», Германия) при длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм) и при температуре (20±0,5)°C.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного пакета SigmaPlot 10 (США) и Excel 2013 (Microsoft, США).

Сходимость содержания гераниола определяли на образцах паст как для одной, так и нескольких серий. Стабильность зубных паст, содержавших гераниол в составе такой лечебно-профилактической добавки, как эфирное масло герани, изучали путем определения его содержания в пастах с различным сроком хранения в рекомендованных производителем условиях.

В качестве стандарта основного действующего вещества эфирного масла герани использовали аналитический стандарт гераниола, специально предназначенный для проведения ГХ-анализа (Sigma-Aldrich, кат. №48798), $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CHCH}_2\text{OH}$, (М.м. 154.25), бесцветную жидкость, чистотой не менее 99 %.

2.3. Методика пробоподготовки зубных паст, содержащих соединения терпеновой природы

Анализ раздела «Состав» в инструкциях лекарственных препаратов, содержащих экстракты эфиромасличных растений, на официальном сайте Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС) показал, что наиболее актуальным экстрагентом действующих веществ из данного типа лекарственного растительного сырья является спирт этиловый 95% (этанол). В большинстве случаев это объясняется неполярным строением терпенов и терпеноидов, главных фармакологически активных компонентов эфирносов, которые практически нерастворимы в воде, и наоборот, легко растворимы в органических растворителях. В частности, согласно ОФС.1.5.2.0001.15 эфирные масла мало, очень мало и практически нерастворимы в воде, легко растворимы или растворимы в спирте различной концентрации, эфире и других органических растворителях. Таким образом, главным экстрагентом соединений терпеновой природы из зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» был выбран спирт этиловый 95%.

Методику пробоподготовки зубных паст для ГХ- анализа с ПИД проводили в соответствии с пунктом 2.4. «Приготовление пробы» ГОСТ 14618.5-78 «Масла эфирные, вещества душистые и полупродукты их синтеза. Газохроматографический метод анализа», в котором сказано, что «твердые продукты предварительно растворяют в соответствующем растворителе» [6].

Методика пробоподготовки для ГХ- анализа с ПИД: Около 20,0000 г (точная навеска) зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» помещали в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, прибавляли 25 мл спирта этилового 95% и проводили экстракцию на ультразвуковой бане в течение 45 мин. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр, после чего фильтрат помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем

фильтрата растворителем до метки. После чего хроматографировали аликвоту (1 мкл) полученного извлечения. Для получения статистически достоверных данных проводили пятикратное испытание.

Помимо подбора экстрагента, позволяющего извлечь максимальное количество репрезентативных, характерных и действующих веществ из исходного образца (в данном случае из лечебно-профилактических добавок, представленных водно-спиртовыми экстрактами и эфирным маслом, а также зубной пасты как конечного готового продукта), необходимо учитывать способ введения проб и особенности хроматографических приборов, а именно их детекторы. При ГХ-анализе использование образцов с примесью воды еще допустимо, так как ее наличие не мешает работе пламенно-ионизационного детектора. Однако, с практической точки зрения лучше придерживаться использования спиртовых образцов.

Другая ситуация складывается при проведении ГХ-МС-анализа, где в качестве ионного источника выступает электронная ионизация (EI). Поток электронов ионизирует образец испытуемого вещества, находящегося в газообразном состоянии. Энергия электронов (обычно 70эВ) больше энергии ионизации образца. Главным ограничением данного способа ионизации является необходимость испарения образца, что делает невозможным исследование полярных, термолабильных или высокомолекулярных соединений. Вода является полярным растворителем, поэтому использование образцов с ее примесью может привести к нарушению работы ионного источника и ионной ловушки с их последующей заменой. С этой целью при проведении ГХ-МС рекомендуют либо не вводить образцы на водной основе, либо отключать электронную ионизацию в момент выхода воды из колонки.

В состав зубной пасты «Лечебные травы» входит вода очищенная, поэтому пробоподготовка исходного образца для ГХ-МС анализа включала следующие этапы: 1) получение из гелеобразной массы пасты (навеска 10,00г) порошкообразную за счет добавления к навеске натрия сульфата безводного (1,5г) (Na_2SO_4), обладающего гигроскопичными свойствами и образующего кристаллогидрат $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$; 2) экстракция в дихлорметан (30 мл) на ультразвуковой бане в течение 30 мин.; 3) фильтрация надосадочной жидкости через бумажный фильтр; 4) переэкстрагирование осадка в дихлорметан (30 мл); 5) фильтрация осадка; 6) объединение двух полученных фракций с последующим концентрированием (упариванием) на роторном испарителе до сухого остатка; 7) растворение сухого остатка в 2 мл дихлорметана. Дихлорметан является неполярным растворителем, что удовлетворяет двум основным требованиям проводимого качественного и количественного анализа действующих веществ лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст:

- извлечению неполярных соединений терпеновой природы;

- эффективной работе хромато-масс-спектрометра без лишних затрат на его возможный ремонт.

Методику пробоподготовки зубных паст для ГХ-МС анализа проводили в соответствии с ГОСТ ISO 356-2014 «Масла эфирные. Подготовка проб для испытаний» [11].

Методика пробоподготовки для ГХ-МС анализа: Около 10,00г (точная навеска) зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» помещали в фарфоровую ступку, добавляли массу осушающего вещества натрия сульфата безводного, равную приблизительно 15% массы навески зубной пасты (1,5г), и перемешивали с помощью фарфорового пестика полученную смесь до образования порошкообразной массы. Переносили приготовленную массу в колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 35 мл дихлорметана и проводили экстракцию в течение 30 минут на ультразвуковой бане. Проводили фильтрацию полученной суспензии через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Фильтрат оставляли в колбе, массу, осевшую на фильтре, снова помещали в фарфоровую ступку и последовательно проводили повторное перемешивание, экстрагирование и фильтрацию по указанной ранее методике. К первоначально полученному фильтрату прибавляли последующий полученный фильтрат, объединяя в мерной колбе вместимостью 100 мл, после чего доводили объем объединённого фильтрата растворителем до метки. Из мерной колбы вместимостью 100 мл количественно переносили примерно 2 мл полученного объединённого раствора в колбочку вместимостью 10 мл для роторного испарителя и упаривали досуха. К сухому остатку добавляли 2 мл дихлорметана и 10 мкл раствора внутреннего стандарта (концентрация фенантрена 1мг/мл, нафталина 1мг/мл). Раствор использовали свежеприготовленным. Проводили хроматографирование аликвоты (1 мкл) полученного извлечения. Для получения статистически достоверных данных проводили пятикратное испытание.

Удаление воды из исследуемых паст также продиктовано тем фактом, что меньшая часть используемых капиллярных колонок в ГХ-анализе приспособлена для разделения водных образцов. Стандартные наиболее часто применяемые колонки (100% диметилполисилоксан или 95% диметилполисилоксан + 5% дифенилполисилоксан) не рассчитаны на анализ водных растворов, так как эти неподвижные фазы относятся к неполярным, и вода не смачивает стенки колонки, не конденсируется в виде единого пятна на старте колонки. В результате пики могут двоиться, время удерживания не воспроизводится. Следует также учитывать высокую стоимость и меньшую стабильность фаз, пригодных для анализа воды. По этим причинам при проведении ГХ (не только в ГХ-МС) стараются избегать использование водных растворов по мере возможности.

Таким образом, при проведении ГХ-анализа зубных паст «Лечебные травы» с использованием ПИД в качестве экстрагента соединений терпеновой природы, в частности

гераниола, был выбран спирт этиловый 95 %, а при проведении ГХ-анализа с масс-спектрометрическим детектированием – дихлорметан. Данное решение было продиктовано неполярной природой определяемых действующих веществ лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст и особенностями современного метода контроля качества (ГХ).

ГЛАВА 3. АНАЛИЗ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ЗУБНЫЕ ПАСТЫ И ОПОЛАСКИВАТЕЛИ

3.1. Изменения в отечественной документации понятийного аппарата СГПР

В период с 2002-2004 гг. С.Б. Улитовский модифицировал ранее существующую классификацию зубных паст (1999г.), в основу которой заложил два признака. В зависимости от особенностей состава и применения зубные пасты были подразделены на три группы (профессиональные, специальные и индивидуальные), а в зависимости от направленности действия – на три условные группы (гигиенические, лечебно-профилактические и лечебные (специальные)) [52]. Также в таком национальном стандарте как ГОСТ 7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия», введённом в действие 1 января 2001 года и действующего на текущий момент, официально фигурируют две группы зубных паст: гигиенические и лечебно-профилактические [7].

Гигиенические зубные пасты оказывают исключительно очищающее и освежающее действие, и, соответственно, не предназначены для оказания какого-либо другого воздействия на полость рта. В отличие от них, действие лечебно-профилактических зубных паст направлено на предупреждение и лечение кариеса, а также ВЗП и слизистых оболочек ротовой полости. Отличие указанных выше зубных паст от гигиенических заключается в том, что первые, кроме известных компонентов, включают в свой состав активные добавки, обладающие лечебными и профилактическими свойствами. По этой причине С.Б. Улитовский подразделил лечебно-профилактические зубные пасты на 8 классов в зависимости от входящих в их рецептуру активных компонентов [52]:

1. Содержащие растительные добавки и биологически активные вещества (микроэлементы, витамины);
2. Содержащие антибактериальные агенты (триклозан, хлоргексидин);
3. Солевые;
4. Фторсодержащие;
5. Содержащие минеральные добавки;
6. Ферментосодержащие
7. Снижающие чувствительность эмали (ионы К, Sn);
8. Отбеливающие (перекисные соединения).

Таким образом, в течение длительного периода времени подобное разделение зубных паст на две группы сохранялось в научной литературе и было законодательно подтверждено.

Качество данной продукции в Российской Федерации на тот момент регламентировалось такими документами, как СанПиН 1.2.676-97 «Гигиенические требования к производству, качеству и безопасности средств гигиены полости рта», ГОСТ 7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия» [7], и, отчасти, ГОСТ Р 51391-99 «Изделия парфюмерно-косметические. Информация для потребителя. Общие требования». Единственный нормативный документ, сохранивший свое действие за счет присутствующих в нем методик по количественному определению водородного показателя, массовой доли фторида и массовой доли суммы тяжелых металлов, является ГОСТ 7983-99, применение которого при оценке качества зубных паст является добровольным.

На сегодняшний день качество СГПР в нашей стране регламентируется «Едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» [20], утвержденными решением Комиссии Таможенного Союза №299 от 28.05.2010, а также техническим регламентом ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции», принятым решением Комиссии Таможенного Союза №799 от 23.09.2011. С 1 июля 2012 года после вступления в силу ТР ТС 009/2011 термин «лечебно-профилактические» был исключен и заменен на «гигиенические» и «профилактические», а главной целью применения зубных паст и ополаскивателей как основных СГПР стало исключительно «очищение, ароматизация, изменение внешнего вида, защита и поддержание в хорошем состоянии» зубов, десен и слизистой оболочки [51]. В последствие Г.Г.Онищенко в своем рекомендательном письме №01/760-12-32 «О приказе Роспотребнадзора от 19.09.2011 №742» от 31.01.2012 сообщил о недопустимом использовании термина «лечебно-профилактическая» в названиях СГПР в связи с указанными выше требованиями, так как они не распространяются на продукцию с заявленными лечебными свойствами [41].

Те же изменения в понятийном аппарате на СГПР коснулись и ополаскивателей. Также, как и ГОСТ 7983-99 на зубные пасты, ГОСТ Р 51577-2000 «Средства гигиены полости рта жидкие. Общие технические условия», введенный в действие 1 июля 2001 года и действующего на текущий момент [13], вошел в следующие перечни [40]:

- ✓ перечень стандартов, содержащих правила и методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимые для применения и исполнения требований ТР ТС 009/2011 и осуществления оценки (подтверждения) соответствия продукции;
- ✓ перечень стандартов, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований ТР ТС 009/2011.

Основным нормативным документом, регламентирующим качество жидких СГПР, в том числе ополаскивателей, стал ТР ТС 009/2011 [51].

Таким образом, на сегодняшний день сложилась неоднозначная ситуация в отношении СГПР, обладающих *de facto* лечебно-профилактическим действием. Состав, а, следовательно, и направленность их действия остались неизменными, а подход к их стандартизации согласно выше приведенной нормативной документации был упрощен.

3.2. Показатели качества действующих веществ (лечебно-профилактических добавок) в отечественной и зарубежной нормативной документации на СГПР

Из приведенных выше документов главенствующую роль отводят ТР ТС 009/2011, так как в нем приведены требования ко всей парфюмерно-косметической продукции, а, следовательно, и к СГПР в целом. Первым пунктом в статье 5 указано требование к составу, где приведены четыре перечня веществ:

- 1) запрещенных к использованию;
- 2) разрешенных, но с учетом ограничений;
- 3) разрешенных красителей;
- 4) разрешенных консервантов.

Помимо перечисления указанных выше веществ там также отражены следующие параметры: область применения, максимально допустимая концентрация и другие ограничения и требования. Некоторые «парфюмерные (ароматические) композиции указывают как единый ингредиент без раскрытия состава, а если в состав композиции входят ингредиенты (№ 67-92), указанные в приложении 2, и их содержание превышает концентрацию 0,01% для смываемых продуктов, 0,001% для несмываемых продуктов, то они должны быть указаны в составе». Подобные требования также относятся к основным действующим веществам эфирного масла герани: цитронеллолу (№86) и гераниолу (№78), веществам, разрешенным к использованию в парфюмерно-косметической продукции с учетом ограничений. Этой информацией и ограничивается статья 5, пункт 2 [51].

ГОСТ является национальным стандартом, добровольное применение которого обеспечивает соблюдение требований ТР ТС 009/2011. Следует отметить неоднозначность сложившейся ситуации: исключительно в ГОСТ приведены правила и методы исследований, а также критерии оценки соответствия продукции, следовательно, этот документ должен носить статус «применение на обязательной основе», но никак не «применение на добровольной основе».

Согласно ГОСТ 7983-99 [7], к нормируемым показателям качества зубных паст относятся органолептические, физико-химические и микробиологические показатели, такие как: внешний вид и консистенция, цвет, запах, вкус, микробиологическая чистота, водородный показатель, массовая доля суммы тяжелых металлов, массовая доля фторида, масса фторида в единице упаковки и абразивность. Данному ГОСТ по многим положениям (в части нормативных

требований по водородному показателю, тяжелым металлам, фториду и методикам определения абразивности по Хефферену и определения общего фторида) соответствует международный стандарт ISO 11609-95, который на данный момент заменен новым ISO 11609:2010 «Dentistry. Dentifrices. Requirements, test methods and marking» [120]. С точки зрения нормируемых показателей качества лечебно-профилактических добавок ситуация в Европейский союзе (ЕС) не изменилась: все также регламентируется определение массовой доли фторида, как основного противокариозного агента в составе зубных паст.

Стоит отметить, что в прошлом фторсодержащие зубные пасты относились к лечебно-профилактическим, а на данный момент попадают под категорию просто профилактических зубных паст за счет наличия в их составе фторида, который и обеспечивает клинически доказанное противокариозное действие, то есть лечебное. С момента появления подобных паст на рынке (пятидесятые годы XX века) до момента введения такого показателя качества как «массовая доля фторида, (% , или мг/кг, или ppm)» в нормативную документацию на данный вид продукции (ГОСТ 7983-99) в России прошло около сорока шести лет. Теперь этот показатель является обязательным при маркировке СГПР, содержащих соединения фтора, так как характеризует выраженность противокариозного действия ионов фтора (лечебно-профилактической добавки). Измерение данного показателя необходимо при стандартизации новых зубных паст, поступающие на рынок, и оценке качества уже существующей продукции.

Таким образом, можно с уверенностью сказать, что ни ГОСТ 7983-99, ни ISO 11609:2010 не учитывают наличие в зубных пастах ингредиентов, обладающих антимикробным и противовоспалительным действием, а также любых других синтетических и природных компонентов, обуславливающих их лечебно-профилактические свойства. Соответственно, в них отсутствуют нормы контроля качества зубных паст, содержащих подобные вещества и способных оказывать лечебно-профилактическое воздействие, по показателю количественного содержания действующих веществ. Приложение 4.3 к разделу 4 главы II «Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» содержит перечень веществ, разрешенных к использованию с учетом указанных ограничений в качестве ингредиентов в парфюмерно-косметической продукции и СГПР, однако он не является исчерпывающим и включает в себя лишь наиболее часто используемые соединения.

Аналогичная ситуация характерна для жидких СГПР, требования к составу которых также отражены в ТР ТС 009/2011, а применение ГОСТ Р 51577-2000 происходит на добровольной основе. Единственным отличием является то, что на данный момент ведется разработка проекта межгосударственного стандарта на данный вид продукции на основе СТБ 1736-2007, национального стандарта Республики Беларусь [40].

Согласно ГОСТ Р 51577-2000 [13], к нормируемым показателям качества жидких СГПР относятся органолептические, физико-химические и микробиологические показатели, такие как: внешний вид, цвет, запах, вкус, водородный показатель, массовая доля суммы тяжелых металлов, массовая доля фторидов (в пересчете на фтор-ион), масса фторидов в единице упаковки и массовая доля этилового спирта. Данный ГОСТ был введен впервые в РФ и не был разработан на основе какого-либо международного стандарта, так как на тот период времени он просто не существовал. Международная организация по стандартизации сначала ввела ISO 16408:2004, который в последствие был отменен и заменен на ISO 16408:2015 «Dentistry. Oral care products. Oral rinses» [121], который включает следующие показатели качества: общая концентрация фтора и максимальное его количество, непредвиденные тяжелые металлы, совместимость с тканями полости рта, микробиологическая чистота, стабильность против старения, контейнер и система дозирования, легко ферментируемые углеводы. С точки зрения нормируемых показателей качества лечебно-профилактических добавок ситуация в ЕС аналогична ситуации с зубными пастами.

Таким образом, несмотря на результаты многих маркетинговых исследований за период с 2006 -2014 гг., демонстрирующих постоянный рост российского и международного рынка зубных паст и ополаскивателей в целом с переменными колебаниями в отдельные годы за счет увеличения ассортимента СГПР, в состав которых входят лечебно-профилактические добавки растительного происхождения в виде различного рода экстрактов, эфирных масел, индивидуальных БАВ [47], современная нормативная документация отстает в своем развитии по разработке соответствующих показателей контроля качества, характеризующих состав конечной продукции с профилактической точки зрения.

3.3. Пограничное положение СГПР в системе здравоохранения

Ни ГОСТ, ни ISO не учитывают наличие в зубных пастах и ополаскивателях ингредиентов, обладающих антимикробным и противовоспалительным действием, а также любых других синтетических и природных компонентов, обуславливающих их лечебно-профилактические свойства. Соответственно, в них отсутствуют нормы контроля качества СГПР, содержащих подобные вещества и способных оказывать лечебно-профилактическое воздействие, по показателю количественного содержания действующих веществ.

Определение СГПР, приведенное в ТР ТС 009/2011, под которое подпадают любые зубные пасты, не может в полной мере характеризовать профилактические зубные пасты [51]. Воспалительные (гингивит, пародонтит, стоматит), а также другие заболевания полости рта (кариес, ксеростомия, галитоз и др.) включены в десятую редакцию Международной классификации болезней (МКБ-10), то есть являются общепризнанными заболеваниями [5]. Соответственно, логичным является отнесение зубных паст и ополаскивателей, оказывающих

влияние на данные заболевания, скорее к лекарственным препаратам. В пользу данного довода могут служить определения главных понятий фармацевтической промышленности: лекарственные средства, лекарственные препараты, фармацевтические субстанции и лекарственные формы, приводимые в ГФ XIII издания и Федеральном законе от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [55].

Согласно тексту этих основополагающих документов, под лекарственными средствами понимают «вещества и их комбинации, вступающие в контакт с организмом человека...для профилактики и лечения заболевания..., и полученные из растений...методами синтеза или с применением биологических технологий». К ним относятся фармацевтические субстанции и лекарственные препараты. Первый термин подразумевает «ЛС в виде действующих веществ биологического происхождения, обладающие фармакологической активностью, предназначенные для производства, изготовления ЛП и определяющие их эффективность». Лекарственные препараты представляют собой «ЛС в виде лекарственных форм, применяемых для профилактики и лечения заболеваний...». Определение лекарственных форм включает в себя «состояние ЛП, соответствующее способам его введения и применения и обеспечивающее достижение необходимого лечебного эффекта» [35, 55]. В ОФС.1.4.1.0008.15 «Мази» [36] приводится определение пасты, как «мази плотной консистенции суспензионного или комбинированного типа, содержание порошкообразных веществ в которых превышает 25 %». Помимо этой ЛФ в этой статье присутствует определение «геля». В ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты» [37] дается определение одноименной ЛФ, как «концентрированного извлечения из ЛРС».

Таким образом, можно сказать, что в зависимости от выпущенной производителем формы (геля или пасты) профилактические зубные пасты соответствуют и могут быть отнесены к этим двум недозированным мягким ЛФ, предназначенным для профилактики и лечения заболеваний полости рта, в состав которых входят синтетические и природные БАВ, обуславливающие их действие. Ополаскиватели в виде водно-спиртовых растворов, в свою очередь, могут быть отнесены к экстрактам с более низкой концентрацией действующих веществ.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что в Российской Федерации на текущий момент отсутствуют зубные пасты, обладающие выраженным лечебно-профилактическим действием, а также не разработаны стандарты, позволяющие надлежащим образом оценить качество подобной продукции. Качество имеющихся на рынке зубных паст, потенциально обладающих лечебно-профилактическим действием, оценивается, по сути, по стандартам косметических средств. Ведущие мировые фармакопеи, в т.ч. ГФ XIII издания, также не содержат отдельных стандартов для подобной лекарственной формы.

На территории стран ЕС действуют Директива Совета ЕС 2001/83/ЕС и Регламент №1223/2009, которые регламентируют отнесение той или иной продукции (в том числе зубных паст, стоматологических гелей, ополаскивателей и т.д.) к лекарственной или косметической категории. Согласно определению лекарственного препарата, приводимому в директиве 2001/83/ЕС, лекарственный препарат – любое вещество (или их комбинация), предназначенное для лечения или профилактики заболеваний человека. Также считается лекарственным препаратом любое вещество (или их комбинация), которые вводятся человеку для восстановления (изменения) различных физиологических функций [101].

В положениях действующего Регламента ЕС №1223/2009 идет ссылка на замененную им Директиву Совета ЕС 76/768/ЕЕС [98], в которой приводится определение косметического средства, под которым понимается любая субстанция (или препарат на ее основе), предназначенная для контакта с наружными участками человеческого тела, а также зубами и слизистой оболочкой полости рта с целью их очищения, изменения внешнего вида, а также с целью защиты от воздействия различных внешних факторов и поддержания в здоровом состоянии [160].

В спорных случаях, когда определенный продукт удовлетворяет определению косметического средства, однако характеризуется дополнительными лечебными или профилактическими свойствами, то он автоматически переводится в категорию лекарственных препаратов. В ряде стран для обозначения подобных средств используется понятие т.н. «пограничной продукции» (borderline products) – средств, по всем основным параметрам соответствующих косметическим, однако обладающих лечебно-профилактическим действием в отношении того или иного заболевания. Логичным является отнесение к данной категории профилактических зубных паст, имеющих в своем составе лечебно-профилактические ингредиенты.

В настоящее время широкое применение получили зубные пасты, содержащие растительные добавки в виде различного рода экстрактов, эфирных масел, индивидуальных БАВ, обуславливающих фармакологические эффекты и не вызывающих выраженные побочные реакции. Подобное использование зубных паст может быть принято за фитопрофилактику наиболее распространенных заболеваний полости рта (гингивита и пародонтита), которую отличают повышенная эффективность и безопасность. Наряду с разными группами лечебно-профилактических добавок (фторидов, антибактериальных и др. компонентов), Бюро стандартизации Индии (BIS) отдельно выделяет группу эфирных масел [86]. В Америке, Федеральном Законе о пищевых продуктах, лекарственных средствах и парфюмерно-косметических товарах (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act, FD&C Act), разделе 201 приведены определения понятий «лекарственное средство» и «парфюмерно-косметическое изделие», а

также сказано, что некоторые виды продукции могут одновременно удовлетворять определениям этих двух понятий, а, следовательно, и предъявляемым к ним требованиям. Так зубные пасты на основе фторидов, а также эфирных масел попадают в эту пограничную категорию изделий, потому что помимо гигиены полости рта им присуще оказание лечебного действия [26].

Таким образом, можно сделать вывод, что согласно нормативной документации разных стран подход в стандартизации зубных паст, в состав которых входят лечебно-профилактические добавки (фториды или эфирные масла), отличается в следующем:

1. Назначение зубных паст не ограничивается только гигиеническим и профилактическим действием, а также может быть и лечебным в зависимости от входящих в них добавок и оказываемого ими терапевтического эффекта. Последнее относится к зубным пастам на основе фторидов и эфирных масел.

2. В случае использования эфирных масел в качестве отдушки в составе зубных паст, последние стандартизуется как парфюмерно-косметические изделия, а в случае прописанного в назначении зубных паст лечебно-профилактического действия, стандартизация проходит согласно требованиям на лекарственные средства.

Таким образом, на основе приведенных данных ЕС и FDA можно утверждать, что СГПР занимают пограничное положение в сфере здравоохранения, так как зубные пасты и ополаскиватели профилактического назначения больше относятся к лекарственным препаратам, а, следовательно, должны попадать под ряд требований, предъявляемых к этой продукции. Как известно, характерной особенностью любой стандартизации, в том числе и лекарственных средств, является определение качественных и количественных показателей. Так определение массовой доли фторида и указание норм концентраций ионизированного фтора (от 500 до 2500 ppm) для фторсодержащих зубных паст и ополаскивателей является наглядным примером такого показателя качества как «Количественное определение действующего вещества», под которым понимают метод и/или методику анализа и нормы содержания активных компонентов. Что касается СГПР на основе эфирных масел, то подобного определения в нормативной документации не существует. Введение подобных показателей качества, характеризующих количественное содержание активных лечебно-профилактических добавок, в нормативную документацию на зубные пасты и ополаскиватели необходимо в рамках программы стандартизации, сертификации и технического регулирования готовой продукции.

3.4. Разработка методического подхода к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС

Основной задачей на данном этапе явилось теоретическое научно-методологическое обоснование и создание методического подхода к стандартизации СГПР на основе лечебно-

профилактических добавок эфирномасличного ЛРС в соответствии с рисунком 1, с учетом рецептуры (состава), вида и фармакологического действия СГПР.

Блок I соответствует первой стадии стандартизации СГПР по разделу «Состав». Он начинается с анализа их рецептуры с целью выявления группы БАВ (т.е. лечебно-профилактической добавки), обеспечивающей профилактические свойства готового продукта. В данном случае нами рассмотрена конкретная группа СГПР, содержащих терпеноидные соединения ЭМ в трех видах:

- в составе ЭМ;
- в виде индивидуальных БАВ синтетического или природного происхождения;
- в составе экстрактов;

Главной составляющей при работе над этим блоком является информационный скрининг веществ в составе ЭМ и анализ их с позиции веществ-маркеров и веществ хроматографического профиля с целью их последующей классификации на группы соответствующих приоритетных, специфических, преобладающих и специфичных, репрезентативных и характерных веществ (ссылка на определение понятий приводится в главе 1, разделе 1.5.1.7).

Блок II посвящен выбору метода пробоподготовки, который зависит от природы определяемых веществ и от особенностей выбранных методов их анализа.

Блок III связан с определением показателя качества «Репрезентативные компоненты лечебно-профилактических добавок», то есть с проведением качественного анализа СГПР на предмет идентификации в их составе заявленных активных компонентов, обладающих профилактическим действием. В силу того, что ЭМ представляет собой многокомпонентную смесь, то в случае СГПР на его основе целесообразнее определять хроматографический профиль. В случае СГПР на основе индивидуальных БАВ и экстрактов проводят идентификацию конкретных БАВ с помощью стандартных образцов, указанных в прописи веществ.

Блок IV связан с определением показателя качества «Массовая доля характерного вещества», то есть с проведением количественной оценки преимущественно характерных компонентов/приоритетных веществ-маркеров, выбор которых продиктован их четырьмя основными критериями, приведенными в главе 1, разделе 1.5.1.7.

Данный подход представлен в виде структурной схемы испытаний на рисунке 1, где отражены основные этапы анализа репрезентативных и характерных компонентов ЭМ, индивидуальных БАВ ЭМ, экстрактов в составе СГПР и разработки в их НД новых физико-химических показателей и методик их испытаний.

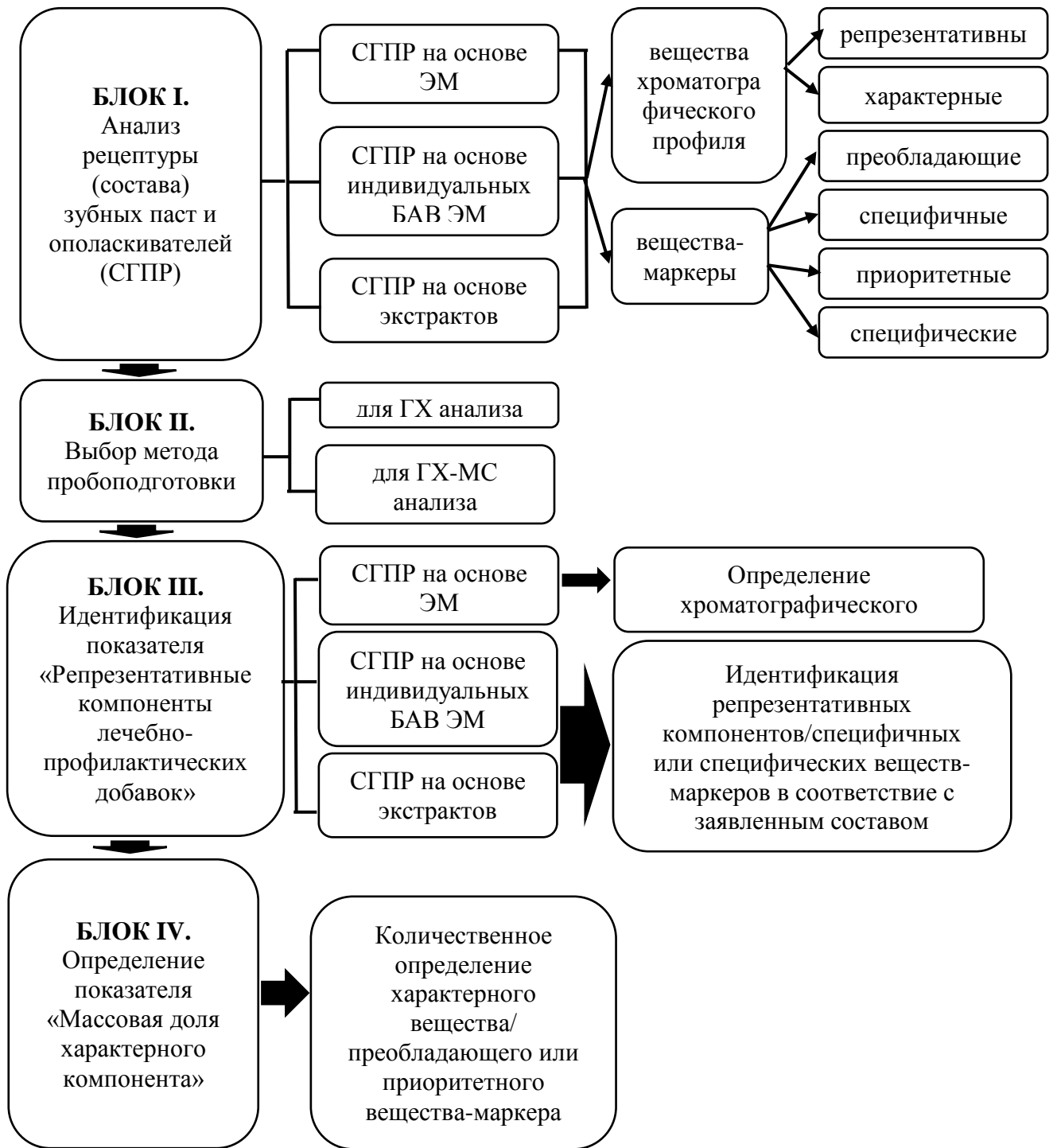


Рисунок 1 – Методический подход к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Согласно приведенной нормативной документации подход к стандартизации СГПР, обладающих *de facto* лечебно-профилактическим действием, был упрощен в силу неоднозначной ситуации в их отношении.

2. НД отстает в своем развитии по разработке показателей контроля качества, характеризующих состав конечной продукции с профилактической точки зрения, а именно качество лечебно-профилактических добавок растительного происхождения (особенно ЭМ).

3. В разработанном методическом подходе к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС (ЭМ, их индивидуальные БАВ, экстракты) отражены такие новые физико-химические показатели качества и методики их определения, как репрезентативные компоненты лечебно-профилактических добавок и их идентификация методом газовой хроматографии, а также массовая доля характерного вещества и его определение.

ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГХ АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ДОБАВОК

Качественный анализ, осуществляемый методом ГХ, подразумевает идентификацию разделяемых компонентов преимущественно двумя методами: с использованием веществ-свидетелей (метод внешнего стандарта) и времени удерживания. В качестве веществ-свидетелей выступают стандартные образцы, время удерживания которых фиксируют и сравнивают со временем удерживания компонентов разделяемой смеси. Об идентичности определенного компонента смеси и вещества-свидетеля говорят в случае, совпадения их времен удерживания на хроматограмме разделяемой смеси.

Качественное определение ингредиентов методом масс-хроматографии осуществляется по их масс-спектрам и временам удерживания.

По причине отсутствия точной прописи изготовления лечебно-профилактических добавок, используемых при производстве зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» и засекреченности информации о сертификатах качества на них был проведен сравнительный ГХ анализ качественного состава водно-спиртовых экстрактов цветков ромашки, листьев шалфея и настоек аналогичного фармакопейного ЛРС «Шалфея листья. *Salviae folia*» и ЛРС «Ромашки цветки. *Chamomillae flores*» на спирте этиловом 95%. Главная задача данного качественного анализа – подтверждение качества указанных добавок путем идентификации репрезентативных компонентов / специфичных веществ-маркеров и последующего сравнения их с аналогичными веществами-маркерами фармакопейных видов эфирномасличного ЛРС с учетом разработанного методического подхода. Описанные ниже методики качественного и количественного анализа приведены в соответствии с правилами составления, изложения и оформления нормативной документации на лекарственные препараты согласно Руководству по экспертизе лекарственных средств, рекомендованному Ученым советом ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [46].

4.1. Качественный ГХ анализ водно-спиртового экстракта листьев шалфея

Качественный ГХ анализ водно-спиртового экстракта листьев шалфея проводили с по следующей методике:

Испытуемый раствор:

10 мл спирта этилового 95% помещали в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 25 мл, отвешивали навеску с точностью до 1,0000 г водно-спиртового экстракта листьев шалфея, полученного от компании-производителя SPLAT, помещали в УЗ-баню на 5-10 мин, доводили объем раствора спиртом этиловым 95% до метки.

Раствор стандартного образца борнилацетата для проверки пригодности хроматографической системы:

Около 0,1030 г (точная навеска) стандартного образца борнилацетата (Sigma-Aldrich кат.№В-6759) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 15 мл спирта этилового 95%, доводили объем раствора спиртом этиловым 95% до метки и перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным.

Проверка пригодности хроматографической системы

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- ✓ эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику **борнилацетата**, не менее 116 397,30 теоретических тарелок;
- ✓ фактор асимметрии пика 0,730;
- ✓ относительное стандартное отклонение площадей пиков не более 2,37%.

Время удерживания: борнилацетата – около 8,13 мин в соответствии с таблицей 4, рисунком 2.

Раствор сравнения (Настойка листьев шалфея лекарственного (*Salviae officinalis folia*) на спирте этиловом 95% (1:10))

Около 20 г (точная навеска) листьев шалфея лекарственного, предварительно измельченных до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18мм, помещали в плоскодонную колбу вместимостью 200 мл и прибавляли 200 мл спирта этилового 95%. Проводили экстракцию методом мацерации в течение 14 суток. Полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр, после чего фильтрат помещали в мерную колбу вместимостью 200 мл и доводили объем фильтрата растворителем до метки.

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца, раствора сравнения и испытуемого раствора. Для получения статистически достоверных данных проводили пятикратное испытание. Получали не менее 5 хроматограмм каждого раствора.

Таблица 4 – Данные хроматографического пика борнилацетата

Время удерживания, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширина, сек
8,13	Борнилацетат	2772,415	314,1045	100,0000	100,0000	18,60

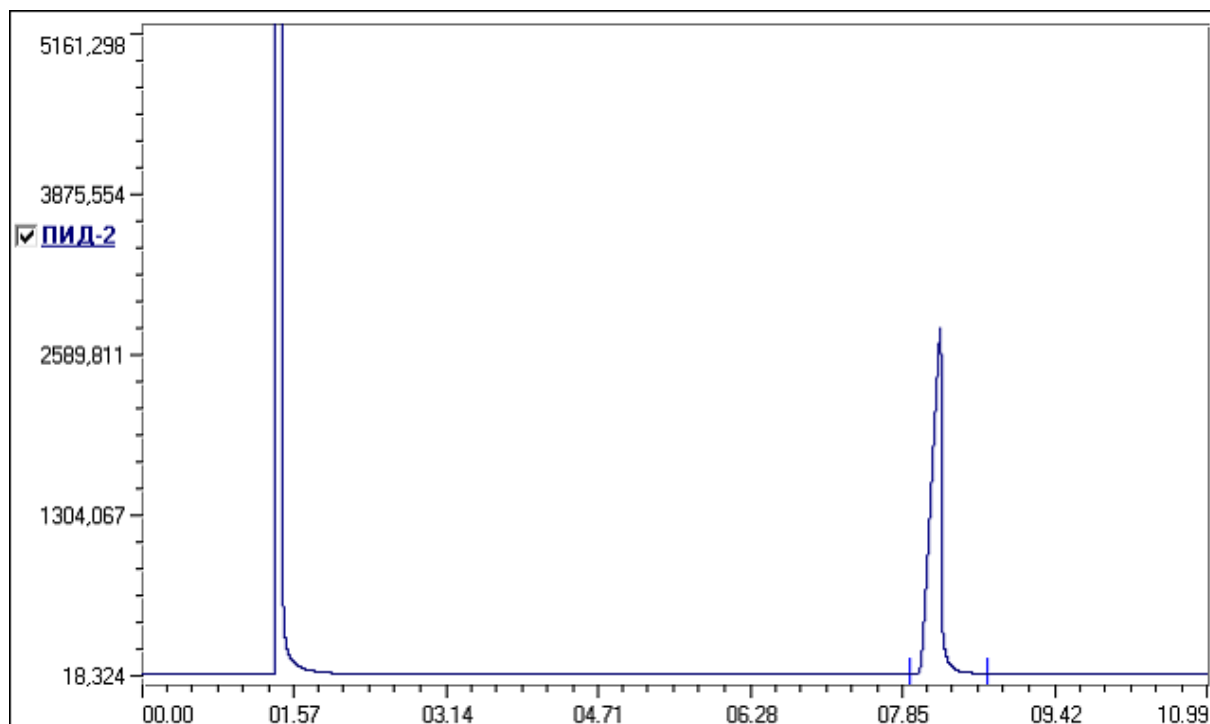


Рисунок 2 – Хроматограмма раствора стандартного образца борнилацетата

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора соответствует времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца **борнилацетата** согласно данным таблицы 5, рисунка 4. Идентификацию компонентов водно-спиртового экстракта листьев шалфея проводили по временам удерживания.

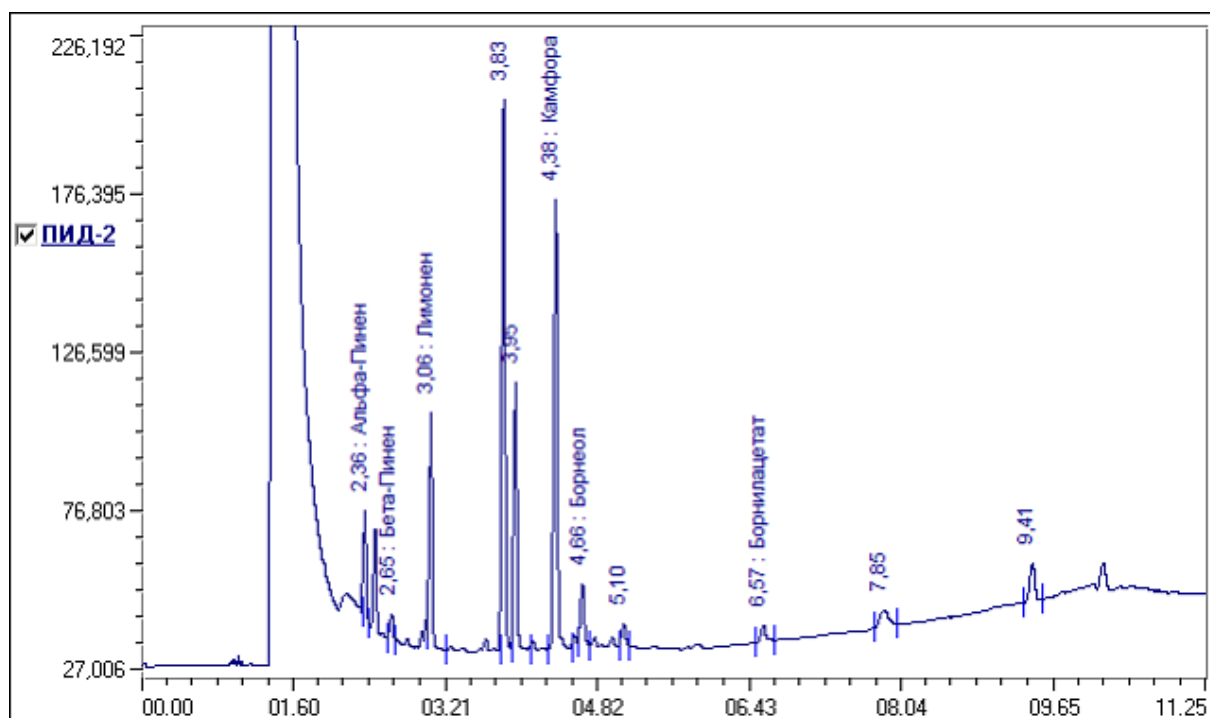


Рисунок 3 – Хроматограмма настойки листьев шалфея лекарственного на спирте этиловом 95% (1:10) (метод ГХ анализа на ПИД)

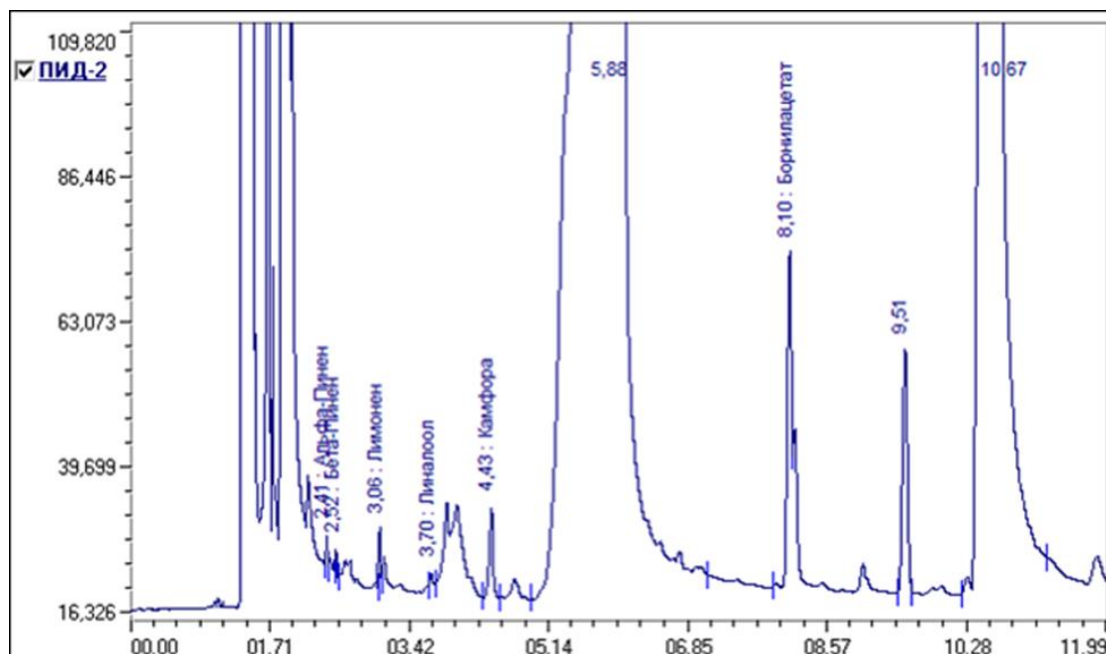


Рисунок 4 – Хроматограмма водно-спиртового экстракта листьев шалфея, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПВД)

Таблица 5 – Сравнительная таблица химического состава летучей фракции листьев шалфея лекарственного из водно-спиртового экстракта и настойки на спирте 95%(1:10)

№	Вещества-маркеры	Раствор сравнения (настойка листьев шалфея лекарственного на спирте этиловом 95% (1:10))		Испытуемый раствор (водно-спиртовой экстракт шалфея, предназначенный для введения в состав ополаскивателя и зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»)	
		№ пика на хроматограмме	время удерживания, сек	№ пика на хроматограмме	время удерживания, сек
1	α-пинен	1	2,36	1	2,41
2	β-Пинен	2	2,65	2	2,52
3	Лимонен	3	3,06	3	3,07
4	Линалоол	4	3,83	4	3,70
		5	3,95		
5	Камфора	6	4,38	5	4,43

6	Борнеол+туйоны*	7	4,66	6*	5,88*
		8	5,10		
7	Борнилацетат	9	6,57	7	8,10
		10	7,85	8	9,51
		11	9,41	9	10,67
Примечание: *туйоны были обнаружены только в водно-спиртовом экстракте листьев шалфея					

Результаты хроматографического анализа раствора сравнения и испытуемого раствора (в соответствии с рисунками 3, 4 и таблицей 5) свидетельствуют, что:

- испытуемый раствор содержит в общей сумме 9 веществ, что является меньше по сравнению с 11 веществами, обнаруженными в растворе сравнения, полученном из фармакопейного стандартизованного ЛРС;
- все 7 известных веществ определены в обоих растворах за исключением туйонов, которые были обнаружены исключительно в испытуемом растворе;
- среди определенных веществ выявлены репрезентативные компоненты/специфичные для листьев шалфея лекарственного вещества-маркеры: борнеол, борнилацетат, туйоны [149], камфора, α -пинен.
- самые большие по площади хроматографические пики отличаются в растворах:
 - 1) в растворе сравнения это пики линалоола, камфоры, неизвестного соединения с №5 на хроматограмме, лимонена;
 - 2) в испытуемом растворе это пики борнеола+туйонов, неизвестного соединения с №9 на хроматограмме, неизвестного соединения с №8 на хроматограмме.

Таким образом, водно-спиртовой экстракт шалфея, предназначенный для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» соответствует по своему химическому составу, в частности по репрезентативным компонентам/специфичным веществам-маркерам, фармакопейному ЛРС «Шалфея листья. *Salvia folia*», что позволяет подтвердить его качество (подлинность).

4.2. Качественный анализ водно-спиртового экстракта цветков ромашки

4.2.1. ГХ анализ

Качественный ГХ анализ водно-спиртового экстракта цветков ромашки проводили по следующей методике:

Испытуемый раствор:

10 мл спирта этилового 95% помещали в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 25 мл, отвешивали навеску с точностью до 1,0000 г водно-спиртового экстракта

цветков ромашки, полученного от компании-производителя SPLAT, помещали в УЗ-баню на 5-10 мин, довели объем раствора спиртом этиловым 95% до метки.

Раствор стандартного образца фарнезена для проверки пригодности хроматографической системы:

Около 0,1000 г (точная навеска) стандартного образца β -фарнезена помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 15 мл спирта этилового 95%, довели объем раствора спиртом этиловым 95% до метки и перемешали. Раствор использовали свежеприготовленным.

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца и испытуемого раствора. Получали не менее 5 хроматограмм каждого раствора.

Проверка пригодности хроматографической системы

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- ✓ эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику **фарнезена**, не менее 221 600 теоретических тарелок;
- ✓ фактор асимметрии пика 1,023;
- ✓ относительное стандартное отклонение площадей пиков не более 3,76%.

Время удерживания: фарнезена – около 5,67 мин в соответствии с таблицей 6, рисунком 5.

Таблица 6 – Данные хроматографического пика фарнезена

Время удерживания, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширина, сек
5,67	фарнезен	2239,45	212,58	100,00	100,000	24,12

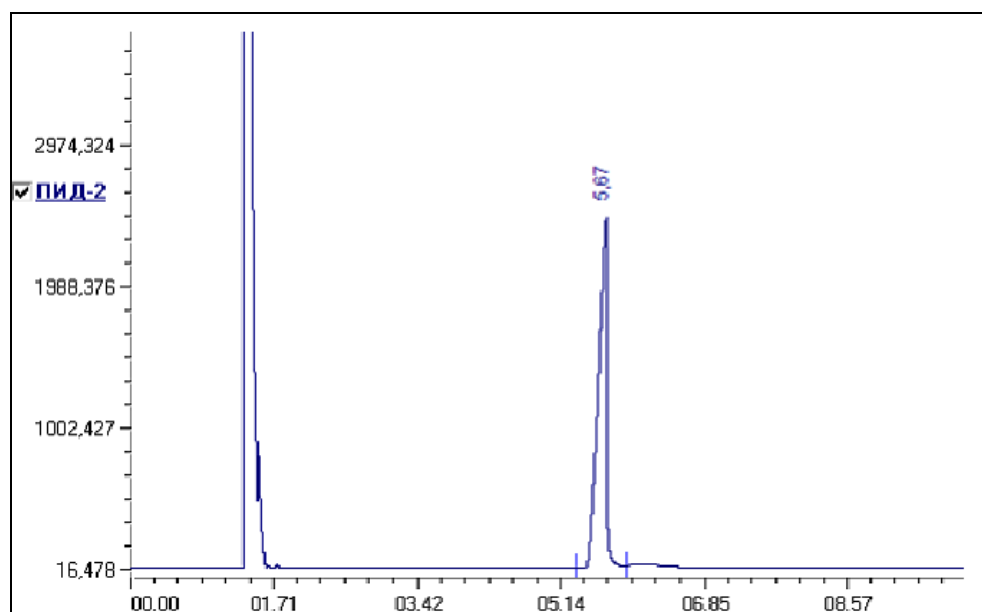


Рисунок 5 – Хроматограмма раствора стандартного образца β -фарнезена

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора соответствует времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца **фарнезена** согласно данным таблицы 7, рисунка 6. Идентификацию компонентов **водно-спиртового экстракта цветков ромашки** проводили по временам удерживания СО. Для подтверждения подлинности и стандартизации данного водно-спиртового экстракта фарнезен был выбран основным специфическим веществом-маркером цветков ромашки в силу более высокого содержания в экстракте по сравнению с бисаболол оксидом А.

Таблица 7 – Химический состав водно-спиртового экстракта цветков ромашки по данным ГХ анализа

№	Время удерживания, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширина, сек
1	5,67	фарнезен	2432,276	254,0485	91,4026	83,8857	21,80
2	10,47	бисаболол оксид А	228,782	48,8024	8,5974	16,1143	16,80
			2661,058	302,8509	100,0000	100,0000	

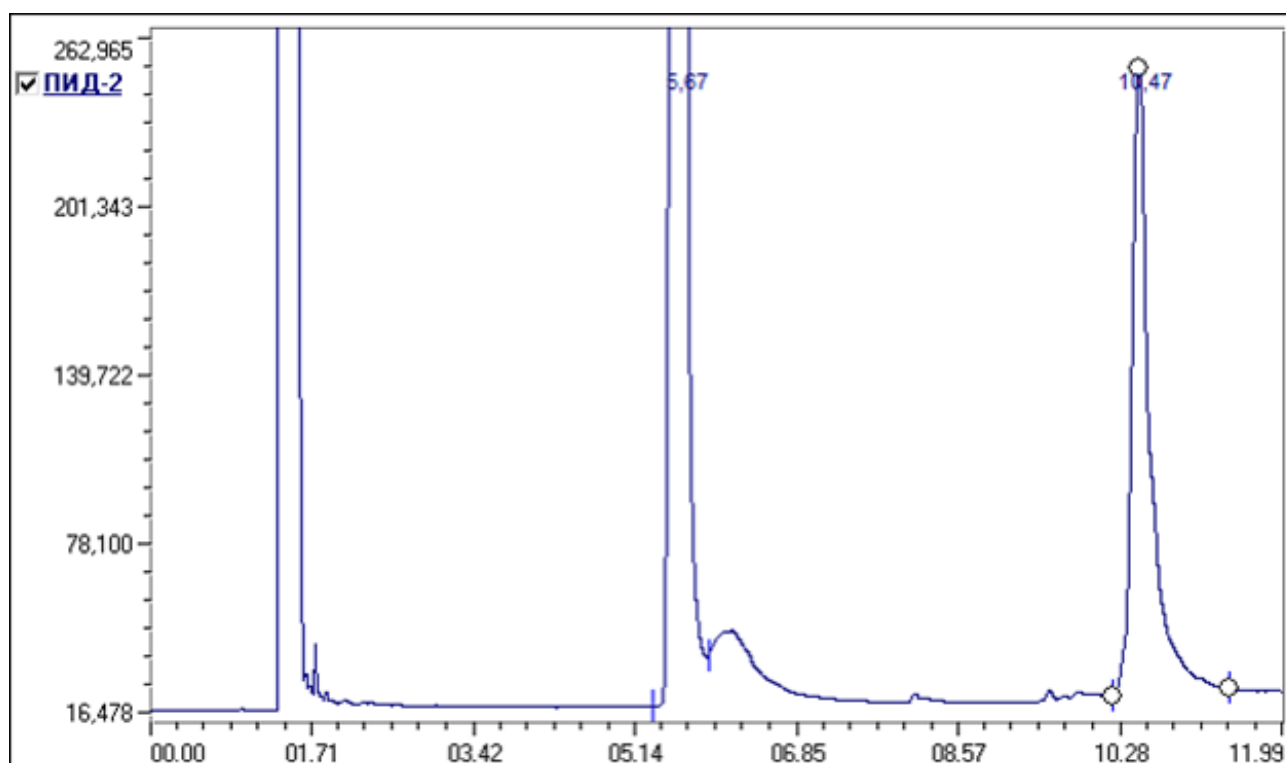


Рисунок 6 – Хроматограмма водно-спиртового экстракта цветков ромашки, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателей «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПВД)

На приведенной выше хроматограмме (рисунок 6) отображены наиболее важные и основные репрезентативные компоненты хроматографического профиля водно-спиртового экстракта цветков ромашки: фарнезен и бисаболол оксид А. Наличие хроматографических пиков этих веществ с характерными временами удерживания говорит о подлинности водно-спиртового экстракта цветков ромашки, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

4.2.2. ГХ-МС анализ

Качественный ГХ-МС анализ водно-спиртового экстракта цветков ромашки проводили по следующей методике:

Испытуемый раствор

Около 30 мл водно-спиртового экстракта цветков ромашки упаривали в ротормном испарителе примерно в 3 раза (около 10 мл) с целью удаления воды и концентрирования раствора. Прибавляли примерно втрое (около 30 мл) спирта этилового 95% с целью переэкстракции. Проводили хроматографирование аликвоты 1мкл полученного раствора.

Раствор сравнения (настойка цветков ромашки аптечной на спирте этиловом 95% (1:10))

Около 5г (точная навеска) цветков ромашки аптечной, предварительно измельченных до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстия 2мм, помещали в плоскодонную колбу вместимостью 50мл и прибавляли 50 мл спирта этилового 95%. Проводили экстракцию методом мацерации в течение 2 суток.

Хроматографировали испытуемый раствор и раствор сравнения.

Результаты хроматографического анализа раствора сравнения и испытуемого раствора (в соответствии с рисунками 7, 8 и таблицей 8) свидетельствуют о наличие 7 из 11 веществ-маркеров, характерных для исходного эфирномасличного ЛРС (цветков ромашки аптечной), в анализируемом водно-спиртовом экстракте цветков ромашки, предназначенного для введения в состав ополаскивателя и зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», что подтверждает его подлинность. Согласно результатам анализа, самые интенсивные пики приходятся на α -фарнезен, оксид бисаболола В, оксид кариофиллена, так как доли этих компонентов составляют 5,07 %, 22,55 %, 20,88 % соответственно.

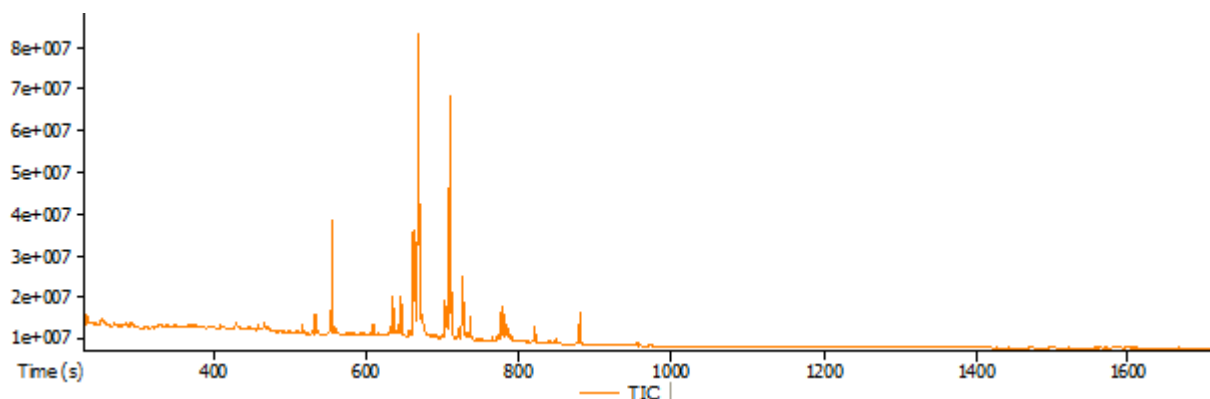


Рисунок 7 – Хроматограмма настойки цветков ромашки аптечной на спирте этиловом 95% (1:10) (метод ГХ-МС)

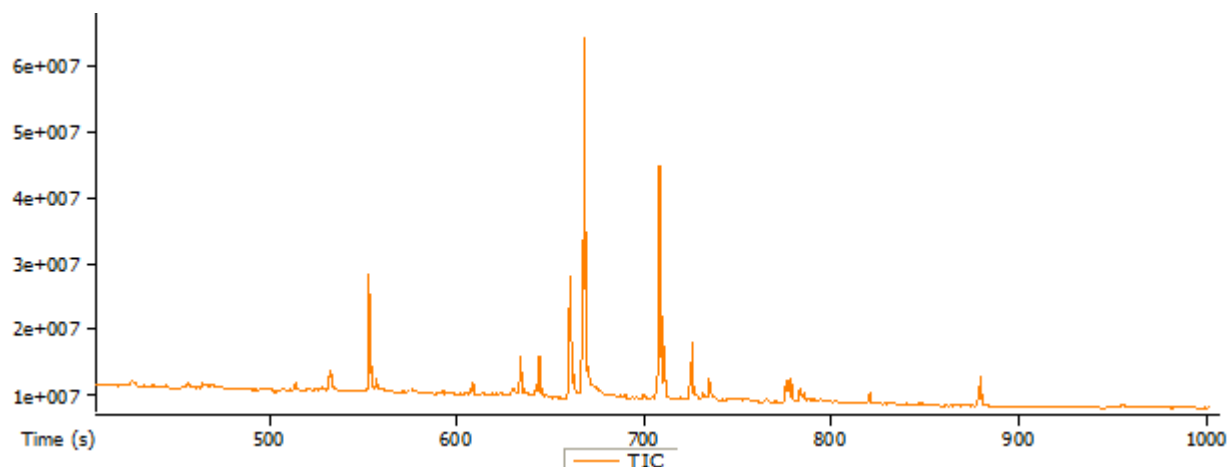


Рисунок 8 – Хроматограмма водно-спиртового экстракта цветков ромашки, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ-МС)

Таблица 8 – Сравнительная таблица химического состава летучей фракции цветков ромашки аптечной по данным ГХ-МС-анализа

№	Вещества-маркеры	Раствор сравнения (настойка цветков ромашки аптечной на спирте этиловом 95% (1:10))		Испытуемый раствор (водно-спиртовой экстракт ромашки, предназначенный для введения в состав зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»)	
		№ пика на хроматограмме	время удерживания, сек	№ пика на хроматограмме	время удерживания, сек
1	Лимонен	73	361.9	54	361.5

2	Борнеол	124	438.2	-	-
3	Карвон	150	469.7	114	469.6
4	Эвгенол	177	515.7	-	-
5	α -фарнезен	201	553.7	147	553.6
6	Спатуленол	244	608.9	179	608.8
7	Кадинен	260	630.3	-	-
8	α -Бисаболол	276	642.9	201	642.8
9	Оксид бисаболола А	291	662.997	215	668.2
10	Оксид кариофиллена	297	668.7	216	668.3

Таким образом, водно-спиртовой экстракт цветков ромашки, предназначенный для введения в состав ополаскивателя и зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» соответствует по своему химическому составу, в частности по специфичным компонентам, фармакопейному ЛРС «Ромашки цветки. *Chamomillae flores*».

4.3. Качественный анализ эфирного масла герани

4.3.1. ГХ анализ

Качественный ГХ анализ эфирного масла герани проводили с по следующей методике:

Испытуемый раствор:

10 мл спирта этилового 95% помещали в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 25мл, отвешивали навеску с точностью до 1,0000 г эфирного масла герани, полученного от компании-производителя SPLAT, помещали в УЗ-баню на 5-10 мин, доводили объем раствора спиртом этиловым 95% до метки.

Раствор стандартного образца гераниола для проверки пригодности хроматографической системы:

Около 0,1745г (точная навеска) стандартного образца гераниола (Sigma-Aldrich кат.№48798) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 5 мл спирта этилового 95%, доводили объем раствора спиртом этиловым 95% до метки и перемешивали.

Раствор использовали свежеприготовленным.

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца и испытуемого раствора. Получали не менее 5 хроматограмм каждого раствора.

Проверка пригодности хроматографической системы

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- ✓ эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику **гераниола**, не менее 50 261,09 теоретических тарелок;
- ✓ фактор асимметрии пика 0,662;
- ✓ относительное стандартное отклонение площадей пиков не более 2,64%.

Время удерживания: гераниола – около 6,00 мин в соответствии с таблицей 9, рисунком 9.

Таблица 9 – Данные хроматографического пика гераниола

Время удерживания, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширина, сек
6,00	Гераниол	2795,959	253,5934	100,0000	100,0000	10,32

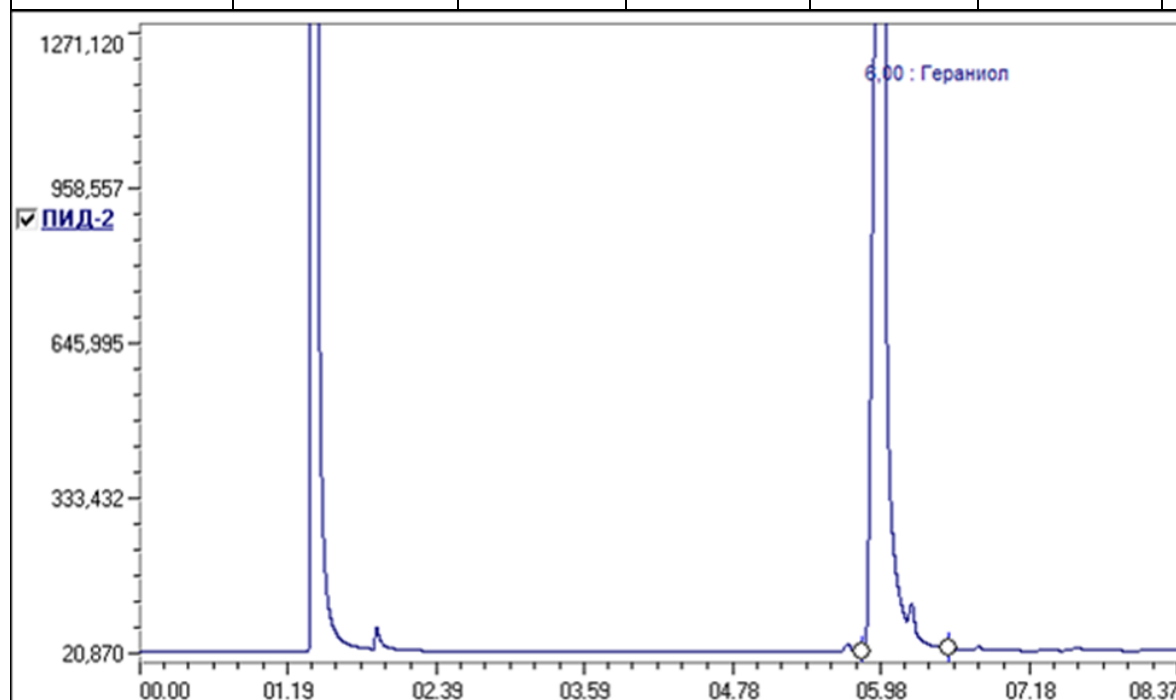


Рисунок 9 – Хроматограмма раствора стандартного образца гераниола

На приведенных ниже таблице 10 и рисунке 10 отображены наиболее важные и основные репрезентативные компоненты хроматографического профиля *эфирного масла герани*: **гераниол и цитронеллол**. Наличие хроматографических пиков этих веществ с характерными временами удерживания говорит о подлинности эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы». Согласно методу внутренней нормализации, самые интенсивные пики приходятся на два основных репрезентативных вещества: цитронеллол и гераниол, массовые доли которых составляют 35,12 % и 18,70 % соответственно, а также на линалоол, нераль и гераниаль – 10,36 %, 11,05 %, 5,73 % соответственно.

Таблица 10 – Химический состав эфирного масла герани по данным ГХ анализа

№	Время удерживания, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширина, сек
1	2,37	Альфа-Пинен	230,815	4,6518	2,1026	0,8359	1,60
2	2,65	Бета-Пинен	15,663	0,4237	0,1427	0,0761	1,28
3	3,03	Лимонен	31,685	0,9069	0,2886	0,1630	1,96
4	3,12	Цимол	5,714	0,1155	0,0521	0,0208	1,32
5	3,17	Цинеол	6,557	0,1758	0,0597	0,0316	1,56
6	3,43	Терпинен	26,249	0,8020	0,2391	0,1441	2,80
7	3,60		13,156	0,3131	0,1198	0,0563	2,04
8	3,68	Линалоол	1893,949	57,6319	17,2527	10,3555	3,32
9	3,83		357,654	9,7990	3,2580	1,7607	2,48
10	4,06		120,217	3,7240	1,0951	0,6691	2,64
11	4,48	Камфора	270,582	9,5094	2,4648	1,7087	3,16
12	4,65	Борнеол	791,124	26,4670	7,2066	4,7557	3,60
13	5,56	Цитронелло л	2788,094	195,4678	25,3978	35,1223	9,04
14	6,02	Гераниол	1651,828	104,0981	15,0471	18,7047	6,96
15	6,34	Нераль	1300,690	61,5209	11,8485	11,0543	6,68
16	6,85	Гераниаль	662,301	31,9153	6,0331	5,7347	11,56
17	7,82		41,810	2,8147	0,3809	0,5058	4,80
18	8,74		62,522	2,8396	0,5695	0,5102	4,04
19	9,51		95,738	5,3992	0,8721	0,9702	6,04
20	9,77		53,952	2,1381	0,4915	0,3842	9,56
21	9,97		371,710	20,1152	3,3860	3,6144	4,40
22	10,27		43,953	3,5190	0,4004	0,6323	5,80
23	10,50		52,985	4,2194	0,4827	0,7582	6,72
24	10,76		11,958	1,0604	0,1089	0,1905	6,04
25	10,95		24,342	1,6963	0,2217	0,3048	6,88
26	11,33		52,467	5,2102	0,4779	0,9362	6,44
	2,37		10977,714	556,5343	100,0000	100,0000	

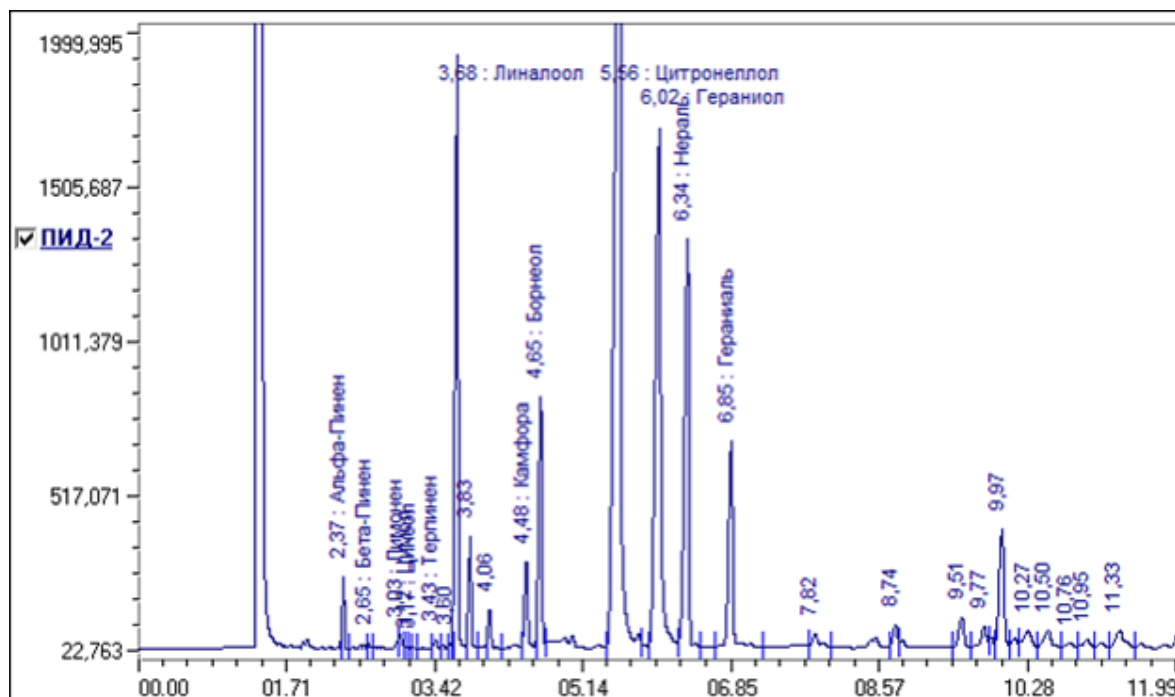


Рисунок 10 – Хроматограмма эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)

4.3.2. ГХ-МС анализ

Качественный ГХ-МС анализ эфирного масла герани проводили с по следующей методике:

Испытуемый раствор

1 каплю эфирного масла герани, полученного от компании SPLAT, отмеряли при помощи стеклянного капилляра и растворяли в 1 мл дихлорметана. Проводили хроматографирование аликвоты (1 мкл) полученного раствора.

Раствор стандартного образца гераниола

1 каплю стандартного образца гераниола (Sigma-Aldrich кат.№48798) отмеряли при помощи стеклянного капилляра и растворяли в 2 мл дихлорметана. Проводили хроматографирование аликвоты (1 мкл) полученного раствора.

Масс-спектр представляет собой фундаментальную характеристику конкретного вещества, поэтому идентификацию гераниола в эфирном масле герани проводили по двум его характеристическим ионам (m/z 41 и 69) масс-спектра (в соответствии с рисунками 11, 12, 13 и таблицей 11). Так как не существует двух различных соединений, имеющих одинаковый масс-спектр, то его данные использовали при проведении качественного хроматомасс-спектрометрического анализа.

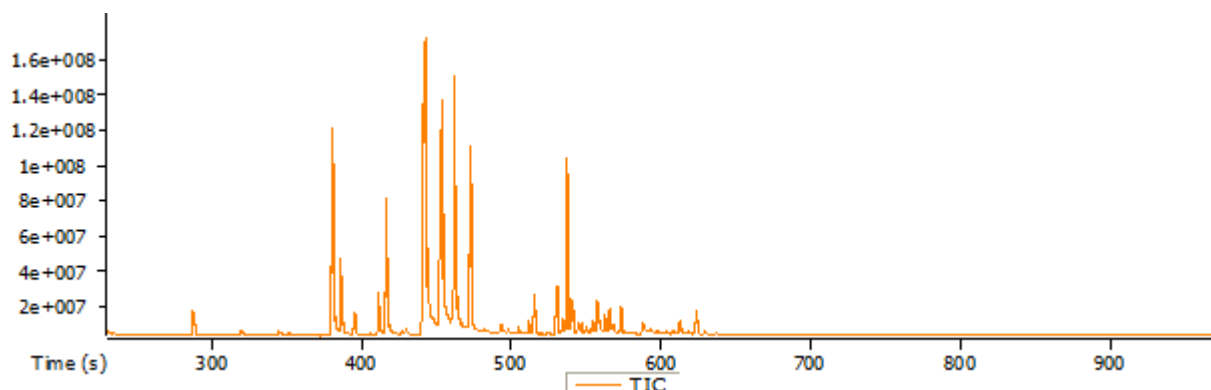


Рисунок 11 – Хроматограмма эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом ГХ-МС

Library Hit - similarity 904, "Citronellol"

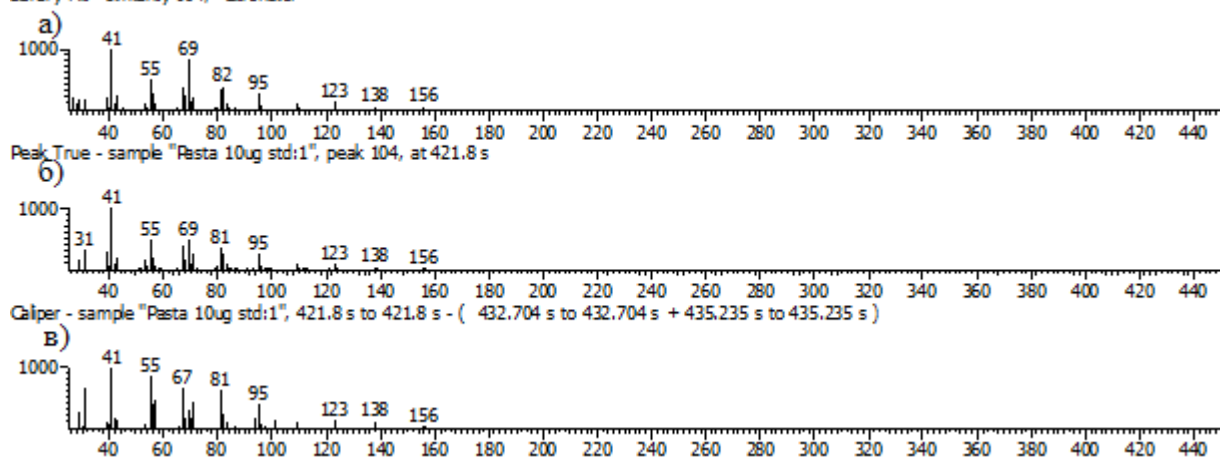


Рисунок 12 – Масс-спектры на вершине хроматографического пика: а) библиотечный масс-спектр цитронеллола; б) индивидуальный масс-спектр цитронеллола (без учета фона); в) индивидуальный масс-спектр гераниола (с учетом фона)

Library Hit - similarity 890, "Geraniol"

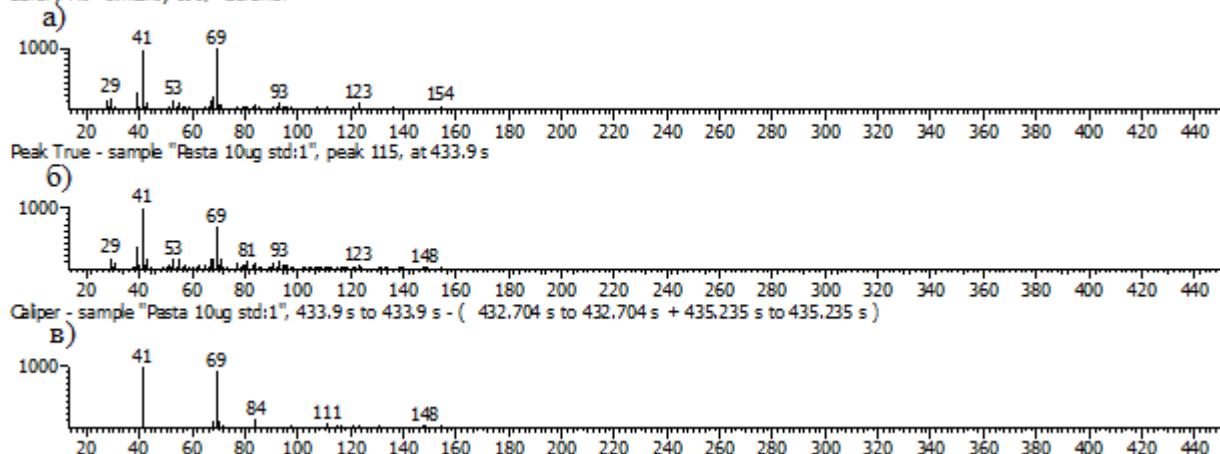


Рисунок 13 – Масс-спектры на вершине хроматографического пика: а) библиотечный масс-спектр гераниола; б) индивидуальный масс-спектр гераниола (без учета фона); в) индивидуальный масс-спектр гераниола (с учетом фона)

Таблица 11 – Химический состав эфирного масла герани по данным ГХ-МС анализа

№	№ пика на хроматограмме	Компонент	Время удерживания, сек
1	15	1S- α -пинен	287,6
2	23	α -мирцен	319,6
3	34	цимол	341,4
4	35	лимонен	344,7
5	37	эвкалиптол	347,2
6	50	терпинен	383,4
7	53	транс- розеноксид	386,3
8	58		395
9	68	ментон	411,2
10	71		416,3
11	78	L-(-)-ментол	427,2
12	80	метиловый эфир хавикола	430,2
13	85	(+)-изоментол	442,5
14	87	цитронеллол	440,7
15	89	гераниол	453,3
16	101		472,7
17	114	α - кубебен	497,8
18	118		504,7
19	121	копаен	511,2
20	123	α -бурбонен	515,4
21	133	аромадендрен	530,6
22	136		537,2
23	141		540,8
24	146	цис- α - бисаболен	544,6
25	149		546,6
26	155	гермакрен Д	553,9
27	167	кадинен	565,6

4.3.3. Стандартизация по ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания

Эфирные масла стандартизуют по следующим показателям качества: «Описание», «Подлинность», «Растворимость», «Спирт этиловый», «Жирные и минеральные масла», в том

числе осмолившиеся вещества, «Вода», «Температура затвердевания», «Плотность», «Оптическое вращение», «Показатель преломления», «Кислотное число», «Объем содержимого упаковки», «Микробиологическая чистота», «Количественное определение» [39].

Испытания проводились согласно требованиям и методикам ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания. Результаты представлены в таблице 12.

Описание.

Определение цвета и прозрачности: 10 мл ЭМ герани помещали в цилиндр из прозрачного бесцветного стекла диаметром 3см, наблюдая перпендикулярно оси цилиндра в проходящем рассеянном дневном свете.

Определение запаха: около 0,1 мл (2 капли) ЭМ герани наносили на полоску фильтровальной бумаги длиной 12 см и шириной 5 см так, чтобы масло не смачивало края бумаги, и оценивали запах через каждые 15 мин. в течение 1 часа [39].

Таблица 12 – Результаты стандартизации ЭМ герани по ГФ XIII издания

№	Показатели качества	Общая фармакопейная статья ГФ XIII издания (ОФС)	Результаты испытаний ЭМ герани
1	Описание	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	Подвижная прозрачная жидкость ярко-желтого цвета с сильным приятным своеобразным запахом, напоминающим аромат камфоры
2	Подлинность	ОФС.1.2.1.2.0004.15. «Газовая хроматография»	гераниол, цитронеллол, нераль, гераниаль
3	Растворимость	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	растворимо в 2,5 мл спирта этилового 95%; растворимо в 1,10 мл эфира диэтилового;
4	Спирт этиловый	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	не обнаружен
5	Жирные и минеральные масла», в том числе осмолившиеся вещества	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	Испарение с фильтровальной бумаги в срок менее 24 ч без остатка

6	Остаток эфирного масла после выпаривания	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	0,004%
7	Вода	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	не обнаружена
8	Температура затвердевания	ОФС.1.2.1.0012.15 «Температура затвердевания»	не выше – 12 °С
9	Плотность	ОФС.1.2.1.0014.15 «Плотность»	0,8950 г/см ³
10	Оптическое вращение	ОФС.1.2.1.0018.15 «Поляриметрия»	$\alpha^20_D = -9,20^\circ \times \text{мл} \times \text{дм}^{-1} \times \text{г}^{-1}$
11	Показатель преломления	ОФС.1.2.1.0017.15 «Рефрактометрия»	$n^20_D = 1,4675$
12	Кислотное число	ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла»	2,31 мг КОН на 1 г ЭМ
13	Перекисное число	ОФС.1.2.3.0007.15 «Перекисное число»	$I_p = 1,13$ ммоль
14	Количественное определение	ОФС.1.2.1.2.0004.15. «Газовая хроматография»	Содержание гераниола в ЭМ герани 15,75±0,5369г/100г

Подлинность.

Определение проводили методом газовой хроматографии согласно ОФС.1.2.1.2.0004.15. «Газовая хроматография» [33], используя относительные времена удерживания отдельных преобладающих и специфических компонентов (гераниол, цитронеллол, нераль, гераниаль). Методика и результаты испытания приведены в разделе 4.3.1. «ГХ анализ» данной диссертационной работы, таблице 10.

Растворимость.

Определение растворимости в спирте этиловом 95%: 1 г ЭМ герани помещали в цилиндр вместимостью 30 мл с притертой пробкой. Термостатировали образец при (20±2) °С. В бюретку вместимостью 25 мл помещали спирт этиловый 95%. Прибавляли спирт порциями по 0,1 мл при частом интенсивном перемешивании до момента полного растворения. 2,5 мл спирта израсходовали для получения прозрачного раствора с 1 г ЭМ герани. Затем продолжали прибавлять спирт порциями по 0,5 мл при интенсивном перемешивании до тех пор, пока общий объем добавленного спирта не был равным 20 мл. Мутность и опалесценция отсутствовали. Раствор становился более жидким за счет растворения масла в растворителе [39].

Определение растворимости в эфире диэтиловом: 1 г ЭМ герани помещали в цилиндр вместимостью 30 мл с притертой пробкой. Термостатировали образец при (20 ± 2) °С. В бюретку вместимостью 25 мл помещали эфир диэтиловый. Прибавляли эфир порциями по 0,1 мл при частом интенсивном перемешивании до момента полного растворения. 1,10 мл эфира израсходовали для получения прозрачного раствора с 1 г ЭМ герани. Затем продолжали прибавлять эфир порциями по 0,5 мл при интенсивном перемешивании до тех пор, пока общий объем добавленного эфира не был равным 20 мл. Мутность и опалесценция отсутствовали [39].

Определение растворимости в воде: 1 г ЭМ герани помещали в плоскодонную колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и добавляли 100 мл воды. На поверхности воды присутствовали пятна ЭМ герани.

1 г ЭМ герани помещали в плоскодонную колбу вместимостью 1000 мл с притертой пробкой и добавляли 1000 мл воды. При рассмотрении в проходящем свете не было заметно капель ЭМ герани на поверхности воды [39].

Спирт этиловый.

2 капли ЭМ герани наносили на воду, налитую на часовое стекло, и помутнения вокруг капель масла на черном фоне не наблюдали [39].

Жирные и минеральные масла», в том числе осмолившиеся вещества.

0,05 мл испытуемого ЭМ помещали на фильтровальную бумагу. Пятно масла испарилось с бумаги полностью в срок менее 24 часов без оставления следа [39].

Остаток эфирного масла после выпаривания.

Около 5 г (точная навеска) ЭМ герани помещали в предварительно взвешенную выпарительную чашку диаметром 7 см. Чашку нагревали на кипящей водяной бане при выключенной вентиляции в течение 60 мин. Охлаждали в эксикаторе над кальцием хлоридом безводным и взвешивали. Уровень воды в бане находился на 15 мм ниже дна выпарительной чашки [39].

Вода.

0,5 мл ЭМ герани смешивали с 10 мл петролейного эфира. Образовался истинный прозрачный раствор [39].

Температура затвердевания.

Испытание проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0012.15 «Температура затвердевания» [28], методики 2 в приборе Жукова.

Плотность.

Испытание проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0014.15 «Плотность» [29], методом 4.

Оптическое вращение.

Испытание проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0018.15 «Поляриметрия» [31].

Показатель преломления.

Испытание проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0017.15 «Рефрактометрия» [30].

Кислотное число.

Испытание проводили в соответствии с ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» [39]. 1 г (точная навеска) ЭМ герани растворили в 5 мл спирта, предварительного нейтрализованного по фенолфталеину. Обнаружено, что 2,31 мг калия гидроксида потребовалось для нейтрализации свободных кислот, содержащихся в 1 г ЭМ герани.

Перекисное число.

Испытание проводили в соответствии с ОФС.1.2.3.0007.15 «Перекисное число» [34], метод I. Около 1,0 г (точная навеска) ЭМ герани помещали в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл. Прибавляли 6 мл смеси уксусной кислоты ледяной и хлороформа (3:2), встряхивали до растворения ЭМ герани, прибавляли 0,1 мл насыщенного раствора калия йодида и закрывали колбу пробкой. Встряхивали точно в течение 1 мин, прибавляли 6 мл воды и титровали натрия тиосульфата раствором 0,01 М, прибавляя титрант медленно при постоянном энергичном встряхивании до светло-желтой окраски раствора. Затем прибавили 1 мл раствора крахмала и продолжали титрование при постоянном встряхивании до обесцвечивания раствора. Объем натрия тиосульфата раствора 0,01 М, израсходованного на титрование, составил 11,40 мл. Проводили контрольный опыт в тех же условиях.

Количественное определение.

Определение проводили методом газовой хроматографии согласно ОФС.1.2.1.2.0004.15. «Газовая хроматография» [33], используя относительное время удерживания отдельного преобладающего и специфического компонента гераниола. Методика и результаты испытания приведены в разделе 5.3.1. «ГХ анализ эфирного масла герани на ПИД методом внешнего стандарта» и в таблицах 16, 17 и рисунке 21 данной диссертационной работы.

Результаты испытаний по стандартизации в таблице 12 подтвердили соответствие качества исследуемого ЭМ герани требованиям ОФС 1.5.2.001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. С учетом разработанного методического подхода было подтверждено качество лечебно-профилактических добавок, используемых при производстве зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», путем идентификации репрезентативных компонентов / специфических веществ-маркеров и последующего сравнения их с аналогичными веществами-маркерами фармакопейных видов эфирномасличного ЛРС: для водно-спиртового экстракта листьев шалфея эти вещества представлены борнилацетатом,

борнеолом и туойнами, для водно-спиртового экстракта цветков ромашки – фарнезенон и бисаболол оксидом А.

2. В результате анализа ЭМ герани в рамках стандартизации по ОФС 1.5.2.001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания было подтверждено его качество путем идентификации таких репрезентативных компонентов, как цитронеллол, гераниол, нераль и гераниаль, массовые доли последних составляют 35,12 %, 18,70 %, 11,05 %, 5,73 %, соответственно.

3. Среди всех веществ ЭМ герани были выделены несколько основных соединений, преобладающих в количественном выражении и оказывающих профилактическое/терапевтическое действие. Наличие цитронеллола и гераниола, как основных веществ-маркеров, является показателем подлинности эфирного масла герани, как при оценке качества самого масла, так и в составе продукции профилактического/терапевтического назначения. Количественное определение гераниола может служить мерой количественной оценки качества продукции на его основе.

4. Разработаны методики идентификации репрезентативных компонентов лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст и ополаскивателей для полости рта, содержащих водно-спиртовые экстракты цветков ромашки, листьев шалфея и ЭМ герани.

5. Разработаны методики подтверждения качества ЭМ герани согласно требованиям и методикам ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания (на основе результатов исследований ЭМ герани, используемого при производстве профилактических зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»).

ГЛАВА 5. КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ СРЕДСТВ ГИГИЕНЫ ПОЛОСТИ РТА

В рамках совершенствования НД на СГПР качественный анализ зубной пасты и ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», содержащих водно-спиртовые экстракты цветков ромашки, листьев шалфея и ЭМ герани, соответствует идентификации показателя «Репрезентативные компоненты лечебно-профилактических добавок» в разработанном методическом подходе, а количественный анализ – определению показателя «Массовая доля характерного компонента».

5.1. Качественный анализ ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Испытуемый раствор

5 мл спирта этилового 95% помещали в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 25мл, добавляли 5 мл ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем фильтрата растворителем до метки. После чего хроматографировали аликвоту (1 мкл) полученного извлечения. Для получения статистически достоверных данных проводили пятикратное испытание.

Раствор стандартного образца гераниола для проверки пригодности хроматографической системы: см. аналогичную методику для эфирного масла герани.

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца и испытуемого раствора. Получали не менее 5 хроматограмм каждого раствора в соответствии с рисунком 14.

На приведенных ниже таблице 13 и рисунке 14 отображены

1. наиболее важные и основные репрезентативные компоненты трех лечебно-профилактических добавок в составе ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»:

- водно-спиртового экстракта цветков ромашки: фарнезен;
 - водно-спиртового экстракта листьев шалфея: α -пинен, камфора, борнеол и борнилацетат.
 - эфирного масла герани: цитронеллол, гераниол.
2. Согласно результатам эксперимента, самые интенсивные пики (пики с наибольшей площадью) приходятся на четыре основные вещества: цимол, борнеол, камфору, терпинен, лимонен, цитронеллол, доли которых составляют 52%, 22%, 5%, 4%, 3%, 2%, соответственно.

Таблица 13 – Химический состав извлечения из ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

№	Время, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширин, сек
1	2,24		19,286	4,2853	1,9846	7,5624	6,76
2	2,38	α-пинен	4,838	0,1925	0,4979	0,3397	2,32
3	2,67	Бета-Пинен	10,185	0,3357	1,0481	0,5924	2,12
4	3,03	Лимонен	34,482	1,3946	3,5484	2,4610	7,16
5	3,09	Цимол	587,695	29,7151	60,4765	52,4391	2,52
6	3,34	Терпинен	27,692	2,1679	2,8496	3,8257	4,48
7	3,66		7,222	0,2363	0,7432	0,4170	2,96
8	4,46	Камфора	72,176	2,7842	7,4273	4,9134	9,16
9	4,62		34,467	1,4910	3,5468	2,6313	2,80
10	4,71	Борнеол	135,636	12,3912	13,9575	21,8672	3,48
11	5,44	Цитронеллол	17,508	0,8133	1,8016	1,4353	4,40
12	5,80	Фарнезен	1,751	0,0559	0,1802	0,0986	2,92
13	5,91	Гераниол	7,456	0,2877	0,7673	0,5077	1,92
14	6,69	Борнилацетат	11,380	0,5152	1,1710	0,9091	4,44
			971,774	56,6659	100,0000	100,0000	6,76

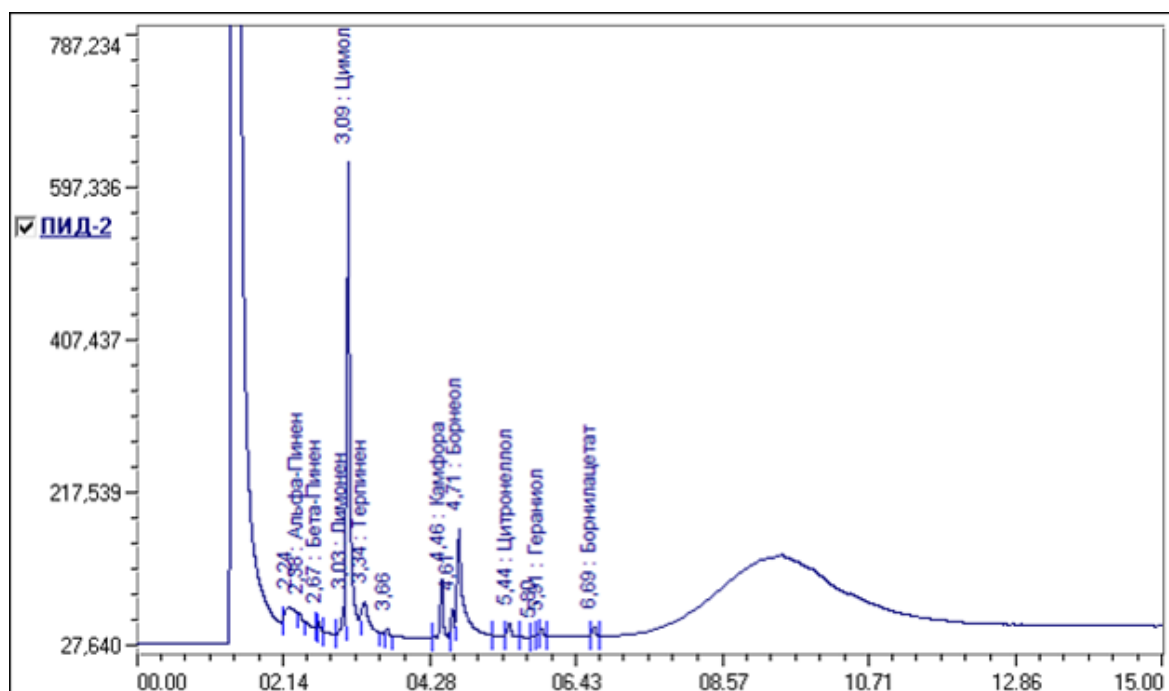


Рисунок 14 – Хроматограмма извлечения из ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Наличие лечебно-профилактических добавок в составе ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» экспериментально подтверждено присутствием репрезентативных компонентов/специфичных веществ-маркеров для ЛРС (цветков ромашки аптечной, листьев шалфея лекарственного) и продуктов его переработки (эфирного масла герани) веществ.

5.2. Качественный анализ зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

5.2.1. ГХ анализ

Качественный ГХ анализ зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» проводили с по следующей методике:

Испытуемый раствор: см. методику пробоподготовки для проведения ГХ анализа с ПИД.

Раствор стандартного образца гераниола для проверки пригодности хроматографической системы: см. аналогичную методику для эфирного масла герани.

На приведенных ниже таблице 14 и рисунке 15 отображены наиболее важные и основные репрезентативные компоненты хроматографического профиля зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»: **гераниол и цитронеллол**. Согласно результатам эксперимента, самые интенсивные пики (пики с наибольшей площадью) приходятся на четыре основные вещества: цитронеллол, гераниол, цимол и камфора, доли которых составляют 76,82%, 3,23%, 11,81%, 6,26%, соответственно.

Таблица 14 – Химический состав извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» по данным ГХ анализа

№	Время, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширин, сек
1	2,37	Альфа-Пинен	3,528	0,0811	0,6005	0,3153	2,32
2	2,66	Бета-Пинен	3,748	0,1185	0,6380	0,4609	2,96
3	3,07	Цимол	127,772	3,0375	21,7511	11,8129	1,60
4	3,29	Цинеол	0,827	0,0235	0,1408	0,0915	2,96
5	3,66	Терпинен	1,293	0,0345	0,2201	0,1343	2,36
6	4,47	Камфора	48,614	1,6102	8,2758	6,2620	2,20
7	4,74	Цитронеллол	390,926	19,7551	66,5489	76,8281	3,56
8	5,51	Гераниол	5,743	0,8300	0,9777	3,2278	7,52
9	5,83	Гераниаль	2,753	0,1282	0,4687	0,4986	3,04
10	6,10	Нераль	2,223	0,0948	0,3785	0,3686	3,20

			587,427	25,7133	100,0000	100,0000	
--	--	--	---------	---------	----------	----------	--

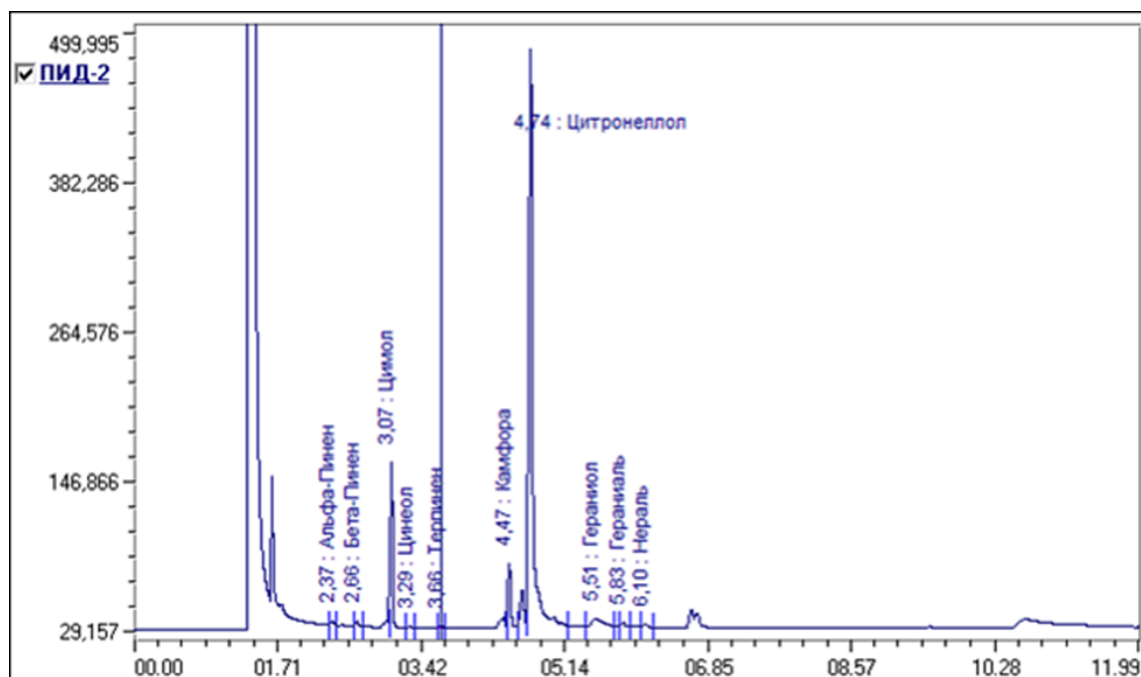


Рисунок 15 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)

5.2.2. ГХ-МС анализ

Качественный ГХ-МС анализ зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» проводили с по следующей методике:

Испытуемый раствор: см. методику пробоподготовки для проведения ГХ-МС анализа без использования внутреннего стандарта.

Согласно результатам анализа, отраженным в таблице 15 и рисунке 16, самые интенсивные пики (пики с наибольшей площадью) приходятся на ментол, его изомеры, эвкалиптол, а также значимые величины имеют пики цитронеллола, гераниола.

Таблица 15 – Химический состав зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» по данным ГХ-МС анализа

№ пика на хроматограмме	Компонент	Время удерживания, сек	Площадь, %
11	1S- α -пинен	288,4	0,18
14	камфен	299,3	0,07
17	α -фелландрен	312,3	0,01
19	α -пинен **	316,1	0,14
21	α -мирцен **	320	0,04
23	α -фелландрен	331,7	0,01

31	цимол	341,4	0,17
27	лимонен	344,7	0,37
29	эвкалиптол	347,2	10,25
32	á-фелландрен	360,1	0,09
35	цис-линалоол оксид	366,8	0,04
37	4-карен	375,1	0,03
38	линалил изобутират	380,1	0,12
41	терпинен	383,4	0,04
48	L- Пинокарвеол	405,6	0,04
49	изопулегол	407,9	0,27
50	камфора	408,7	1,05
51	ментон	411,4	4,62
52	3,6-диметил-4,5,6,7- тетрагидро-1-бензофуран	415,2	0,04
53	изомер ментона	416,1	4,24
55	(1S,2R,5R)-(+)-изоментол	418	2,57
59	ментол	422,5	52,06
63	изомер (1S,2R,5R)-(+)- изоментола	428,2	1,88
64	p-мент -1-ен-8-ол	429,8	1,69
65	p-аллиланизол	430,3	1,61
71	(R)-(+)-á-цитронеллол	440,7	2,34
74	пулегон	450,3	0,44
78	гераниол	451,9	0,15
79	(+)-карвон	452,5	0,05
82	пиперитон	457,6	0,32
88	p-аллиланизол	470,5	5,23
89	Ментилацетат	470,7	2,67
91	Ментилацетат	478,9	0,01
94	камфен	495,4	0,10
99	á-бурбонен	515,4	0,08
103	копаен	529,1	0,04
104	аромадендрен	530,6	0,21
107	метилпарабен	538,5	6,30

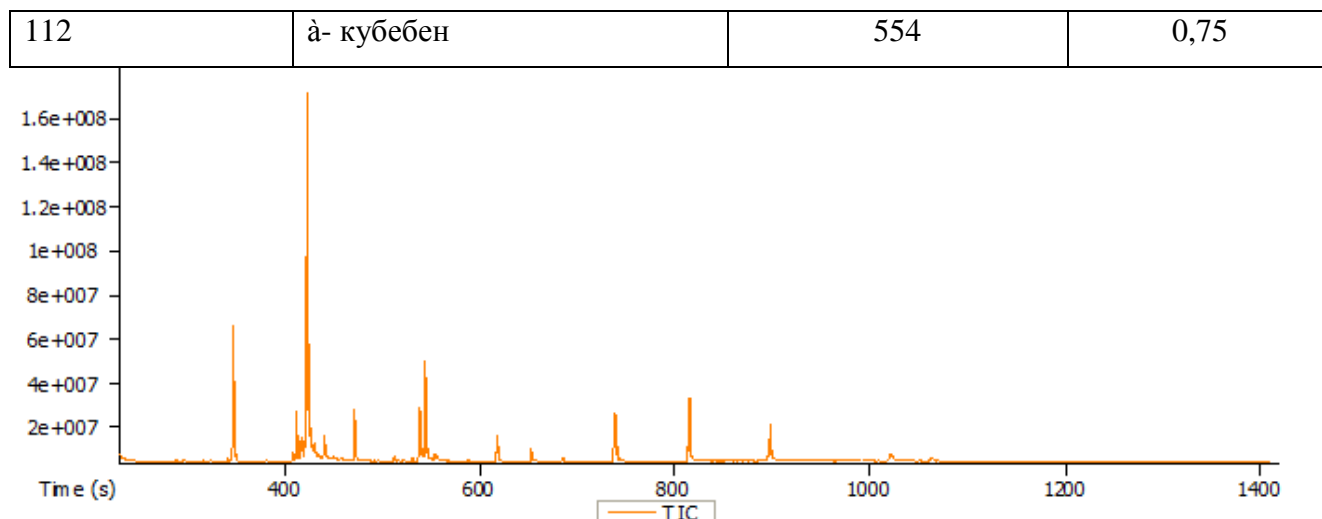


Рисунок 16 – Хроматограмма зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом ГХ-МС

5.3. Количественное определение гераниола в эфирном масле герани и средствах гигиены полости рта

Количественное содержание преобладающих и/или специфичных компонентов в исследуемом образце для *ГХ-анализа методом внешнего стандарта* рассчитывают по формуле (рисунок 15):

$$X = \frac{S_o}{S_{ст}} \cdot \frac{m_{ст}}{V_{ст}} \cdot \frac{V_o}{m_o} \cdot 100\%, \text{ где}$$

Рисунок 17

S_o – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора (мв*мин);

$S_{ст}$ – площадь пика на хроматограмме стандартного раствора (мв*мин);

m_o – навеска испытуемого образца (г);

$m_{ст}$ – навеска стандартного образца (г);

V_o – объем разведения испытуемого образца (мл);

$V_{ст}$ – объем разведения стандартного образца (мл).

По этой формуле рассчитывали процентное содержание основного действующего вещества гераниола в эфирном масле герани. Процентное содержание гераниола в извлечении из зубной пасты компании SPLAT «Лечебные травы» рассчитывали по аналогичной формуле с небольшим изменением (рисунок 16):

$$X = \frac{S_o}{S_{ст}} \cdot \frac{m_{ст}}{V_{ст}} \cdot \frac{V_o}{m_o} \cdot 100\% \cdot 1000$$

Рисунок 18

Количественное содержание преобладающих и/или специфичных компонентов в исследуемом образце для *ГХ-МС анализа методом внутреннего стандарта* рассчитывают по формуле (рисунок 17):

$$M = RF \cdot \frac{S_o}{S_{ст}} \cdot \frac{m_{ст}}{V_{ст}} \cdot \frac{V_o}{m_o}, \text{ где}$$

Рисунок 19

M – количество анализируемого соединения в пробе;

S_o – площадь хроматографического пика испытуемого раствора;

$S_{ст}$ – площадь хроматографического пика внутреннего стандарта;

$M_{ст}$ – количество введенного внутреннего стандарта;

RF – фактор отклика;

Фактор отклика рассчитывают по следующей формуле (рисунок 18):

$$RF = \frac{S_{ст} \cdot M_o}{S_o \cdot M_{ст}}, \text{ где}$$

Рисунок 20

S_o – площадь хроматографического пика стандартного образца (гераниола) в рабочем градуировочном растворе;

$S_{ст}$ – площадь хроматографического пика внутреннего стандарта (фенантрена) в рабочем градуировочном растворе;

M_o – массовая доля гераниола в основном градуировочном растворе;

$M_{ст}$ – массовая доля фенантрена в рабочем градуировочном растворе.

Рабочий градуировочный раствор и испытуемый раствор вводят по 3 раза каждый. Площадь под соответствующим пиком определяют интегрированием, а для расчета используют среднее арифметическое значение.

5.3.1. ГХ анализ эфирного масла герани на ПИД методом внешнего стандарта

Испытуемый раствор: см. методику приготовления одноименного раствора в разделе качественного ГХ-анализа эфирного масла герани.

Раствор стандартного образца гераниола: см. методику приготовления раствора стандартного образца гераниола для проверки пригодности хроматографической системы в разделе качественного ГХ-анализа эфирного масла герани.

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца гераниола и испытуемого раствора. Получали не менее 5 хроматограмм каждого раствора в соответствии с рисунком 21.

Содержание гераниола в ЭМ герани составило $15,75 \pm 0,5369$ г/100 г (16%). Все расчеты приведены в таблицах 16, 17.

Таблица 16– Результаты определения площади пика растворов стандартного образца гераниола

Пробы СО гераниола №	Площадь пика гераниола, мв*мин	Высота пика гераниола, мв	Время удерживания, мин	Концентрация гераниола, %
1	252,0837	3142,781	6,009	100
2	309,8488	3525,472	6,026	100
3	295,7348	3280,656	6,019	100
4	232,9705	2996,492	6,001	100
5	273,9081	3403,064	6,004	100

Примечание: $n=5$; $S_{ст}(\sum S_{ст}/5) = 272,9092$

Таблица 17 – Результаты определения площади пика эфирного масла герани

Пробы эфирного масла №	Площадь пика гераниола, мв*мин	Высота пика гераниола, мв	Время удерживания, мин	Концентрация гераниола, мг/100г			
1	44,1352	905,41	5,93	15,84			
2	45,0352	1150,226	6,01	16,16			
3	43,1352	660,594	6,00	15,48			
4	42,2352	767,535	5,95	15,15			
5	44,9352	1051,699	6,03	16,12			
статистическая обработка концентраций гераниола							
$X(\sum X/5)$	S^2	S	$\pm\Delta$	$X+\Delta$	$X-\Delta$	E	E%
15,75	0,1865	0,4319	0,5369	16,29	15,21	0,0341	3,41

Примечание: $n=5$; $C(\sum C/5) = 15,75$ мг/100г

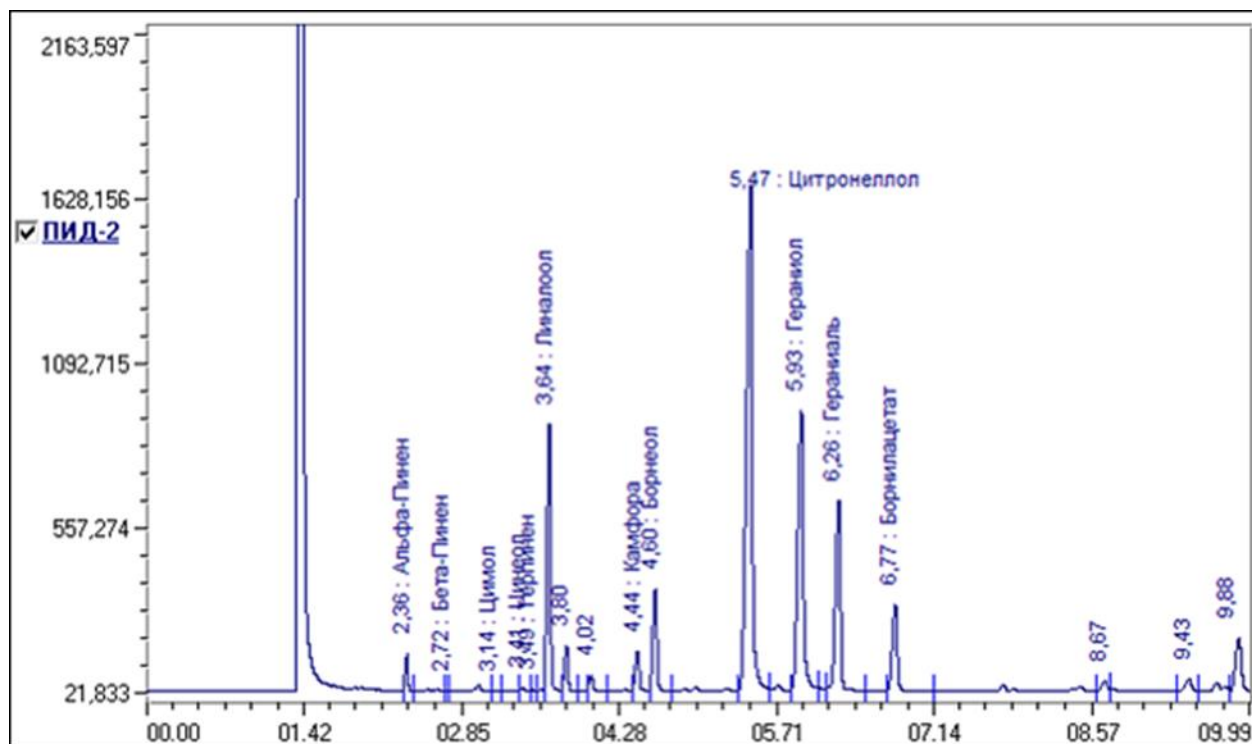


Рисунок 21 – Хроматограмма эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом ГХ-анализа

5.3.2. ГХ анализ ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Методика количественного определения гераниола в ополаскивателе «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом газовой хроматографии приведена в разделе 5.1. Качественный анализ ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы». Содержание гераниола в извлечении из ополаскивателя при проведении ГХ-анализа на ПВД составило $7,08 \pm 0,0453 \text{ мг/100г}$ (0,007%). Все расчеты приведены в таблице 18.

Концентрация гераниола соответствует значениям минимально подавляющей концентрации ЭМ герани для оказания сильного антибактериального действия на биопленки полости рта, а также диапазону нормируемых значений синтетического гераниола [0,001%; 0,01%].

Содержание гераниола в ополаскивателе «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» в 1,5 раза больше, чем в одноименной зубной пасте, что объясняется их разным способом применения, а, следовательно, разным воздействием на развития биопленок в полости рта.

Таблица 18 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Пробы пасты №	Площадь пика гераниола, мв*мин	Высота пика гераниола, мв	Время удерживания, мин	Концентрация гераниола, мг/100г			
1	0,2887	7,457	5,91	7,11			
2	0,2877	7,456	5,91	7,08			
3	0,2867	7,455	5,90	7,06			
4	0,2859	7,454	5,90	7,04			
5	0,2900	7,458	5,92	7,13			
статистическая обработка концентраций гераниола							
X($\sum X/5$)	S ²	S	$\pm\Delta$	X+ Δ	X- Δ	E	E%
7,084	0,00133	0,0365	0,0453	7,129	7,039	0,0064	0,64

5.3.3. Зубная паста «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

5.3.3.1. ГХ анализ на ПИД методом внешнего стандарта

Испытуемый раствор: см. методику приготовления одноименного раствора в разделе качественного ГХ-анализа зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

Раствор стандартного образца гераниола: см. методику приготовления раствора стандартного образца гераниола для проверки пригодности хроматографической системы в разделе качественного ГХ-анализа зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца и испытуемого раствора. Получали не менее 5 хроматограмм каждого раствора в соответствии с рисунком 22.

Содержание гераниола в извлечении из зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» при проведении ГХ-анализа на ПИД составило $2,07 \pm 0,0142$ мг/100г (0,0207 мг/г). Все расчеты приведены в таблице 19.

Таблица 19 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 1 год хранения

Пробы пасты №	Площадь пика гераниола, мв*мин	Высота пика гераниола, мв	Время удерживания, мин	Концентрация гераниола, мг/100г
1	0,4084	10,145	6,05	2,07
2	0,4114	10,148	6,03	2,09
3	0,4081	10,1447	6,05	2,07
4	0,4064	10,143	6,04	2,06
5	0,4094	10,146	6,00	2,08

статистическая обработка концентраций гераниола							
X($\sum X/5$)	S ²	S	$\pm \Delta$	X+ Δ	X- Δ	E	E%
2,074	0,0001	0,0114	0,0142	2,0882	2,0598	0,0068	0,68

Примечание: n=5; C($\sum C/5$) = 2,07мг/100г

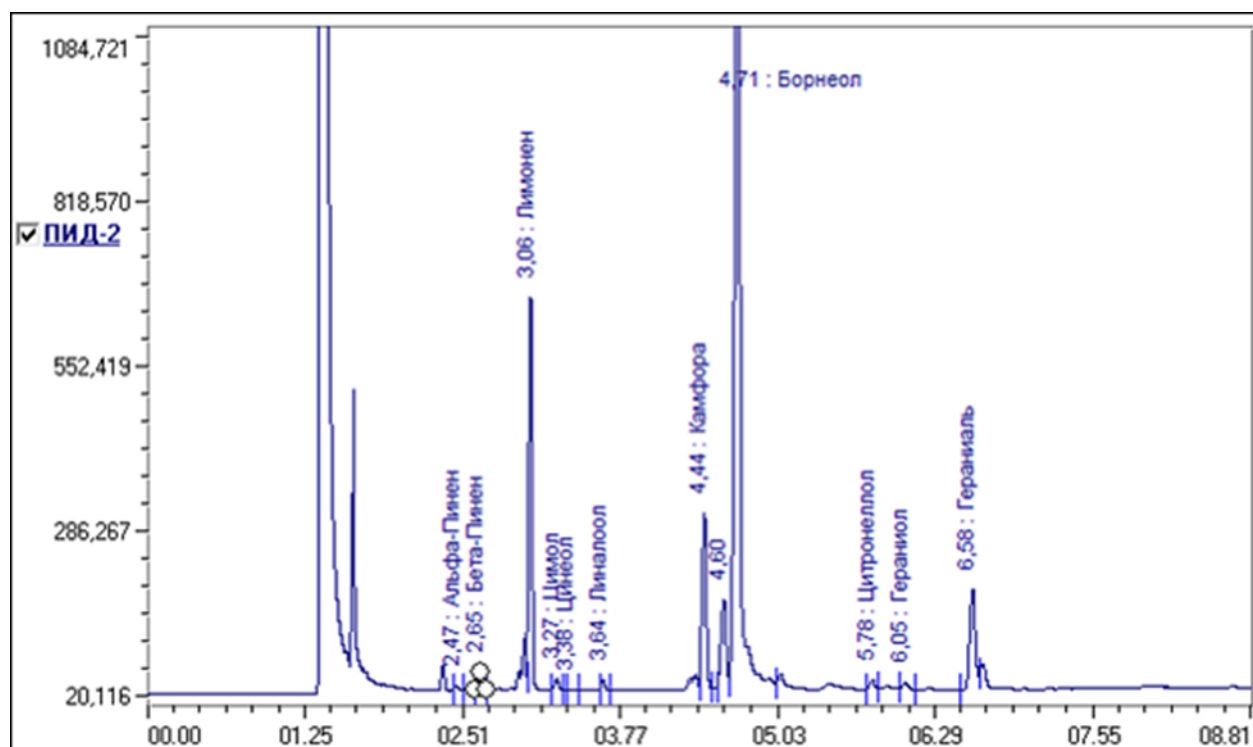


Рисунок 22 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)

Согласно литературным источникам [82, 83] значения МПК ЭМ герани, при которых пеларгония оказывает сильный антибактериальный эффект по отношению к пародонтопатогенным микроорганизмам, составляют 1000 мкг/мл (1,12 мг/г с учетом ρ (ЭМ герани) = 0,89г/мл) к *Streptococcus mutans*, 0.72 мг/мл (0,81мг/г) к *S. aureus*, 0.36 мг/мл (0,4мг/г) к

Bacillus cereus и 0,72 мг/мл (0,81мг/г) к *B. Subtilis*, 1000 мкг/мл (1,12 мг/г) к *S. sobrinus*, 2000 мкг/мл (2,25 мг/г) к *S. sanguinis*, 2000 мкг/мл (2,25 мг/г) к *S. salivarius*, 1000 мкг/мл (1,12 мг/г) к *L. casei*. Несмотря на то, что полученная концентрация гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» составляет 0,02 мг/г, что меньше МПК ЭМ герани, однако рассчитанная концентрация относится исключительно к одному ему основному действующему веществу, а не всему маслу, следовательно, можно предполагать, что концентрация ЭМ будет соответствовать значениям МПК и обеспечивать сильное антибактериальное действие зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» на биопленки полости рта. Внедрение такого показателя качества как «массовая доля гераниола» в НД на профилактические зубные пасты, содержащие в качестве лечебно-профилактической добавки ЭМ герани, будет подтверждать эффективность и качество готовой продукции. С учетом отнесения гераниола к частично смываемым веществам из-за малой растворимости в воде, а также ограничений для синтетического гераниола под номером 78 в перечне веществ приложения 2 ТР ТС -009-2011, полученные концентрации гераниола в исследуемых СГПР соответствуют диапазону нормируемых значений [0,001%;001%].

5.3.3.2. ГХ-МС-анализ методом внутреннего стандарта

Испытуемый раствор: см. методику приготовления одноименного раствора в разделе качественного ГХ-МС-анализа зубной пасты SPLAT «Лечебные травы».

Основной градуировочный раствор стандартного образца гераниола

Около 50мг (точная навеска) стандартного образца гераниола (Sigma-Aldrich кат.№48798) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 50 мл дихлорметана, доводили объем раствора дихлорметаном до метки и перемешивали (концентрация основного градуировочного раствора гераниола 1 мг/мл).

Рабочие градуировочные растворы стандартного образца гераниола с внутренним стандартом

Раствор №1. Отмеривали микрошприцом для хроматографии 10 мкл основного градуировочного раствора стандартного образца гераниола в мерную колбу вместимостью 5мл, добавляли 10 мкл внутреннего стандарта (раствора фенантрена и пердейтеронафталина в дихлорметане с концентрацией фенантрена 1мг/мл, пердейтеронафталина 1мг/мл) и 1мл дихлорметана, после чего проводили хроматографирование аликвоты (0,1мкл) полученного раствора.

Раствор №2. Отмеривали микрошприцом для хроматографии 10 мкл раствора №1 в мерную колбу вместимостью 5мл, добавляют 1мл дихлорметана, после чего проводили хроматографирование аликвоты (0,1мкл) полученного раствора.

Раствор №3. Отмеривали микрошприцом для хроматографии 10 мкл раствора №2 в мерную колбу вместимостью 5мл, добавляют 1мл дихлорметана, после чего проводили хроматографирование аликвоты (0,1мкл) полученного раствора. Растворы использовали свежеприготовленными. Рабочий градуировочный раствор и испытуемый раствор вводили по 3 раза каждый.

Содержание гераниола в извлечении из зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» при проведении ГХ-МС анализа составила $1,08 \pm 0,0162$ мг/100г. Все результаты приведены в таблицах 20, 21, 22, рисунках 23, 24, 25, 26, 27.

Таблица 20 – Результаты ГХ-МС анализа рабочих градуировочных растворов стандартного образца гераниола с внутренним стандартом пердейтеро-нафталином

№ раствора	Компоненты	Время удерживания, с	Характеристические ионы с m/z	Площадь под пиком, мв*с	Фактор отклика по внутреннему стандарту (пердейтеро-нафталину)
Раствор №1	пердейтеро-нафталин	402,6	136	47870562	
	гераниол	431,5	69	61960859	0,8
Раствор №2	пердейтеро-нафталин	402,4	136	25577889	
	гераниол	431,2	69	29760151	0,9
Раствор №3	пердейтеро-нафталин	402,4	136	21866915	
	гераниол	431,1	69	23663101	0,9

Таблица 21 – Результаты ГХ-МС анализа рабочих градуировочных растворов стандартного образца гераниола с внутренним стандартом фенантреном

№ раствора	Компоненты	Время удерживания, с	Характеристические ионы с m/z	Площадь под пиком, мв*с	Фактор отклика по внутреннему стандарту (фенантреном)
Раствор №1	фенантрен	636,4	188	17210483	
	гераниол	431,5	69	61960859	0,3
Раствор №2	фенантрен	636,1	188	8661087	
	гераниол	431,2	69	29760151	0,3

Раствор	фенантрен	635,9	188	6704987	
№3	гераниол	431,1	69	23663101	0,3

Таблица 22 – Результаты ГХ-МС анализа извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с внутренним стандартом фенантrenom

Пробы пасты №	Компонент испытуемого раствора с внутренним стандартом	Время удерживания, с	Характеристические ионы с m/z	Площадь под пиком, мв*с	Концентрация гераниола, мг/100г		
1	гераниол	433,9	69	96490843	1,10		
	фенантрен	638,1	188	18628220			
2	гераниол	433,4	69	106420216	1,07		
	фенантрен	637,3	188	21171752			
3	гераниол	434	69	101455530	1,08		
	фенантрен	638	188	19899986			
4	гераниол	433,5	69	103937873	1,07		
	фенантрен	637,5	188	20535869			
5	гераниол	433,7	69	98973186	1,09		
	фенантрен	637,6	188	19264103			
статистическая обработка концентраций гераниола							
$X(\sum X/5)$	S^2	S	$\pm\Delta$	$X+\Delta$	$X-\Delta$	E	E%
1,082	0,00017	0,01304	0,0162	1,0982	1,0658	0,0150	1,50

Примечание: $n=5$; $C(\sum C/5) = 1,08\text{мг}/100\text{г}$

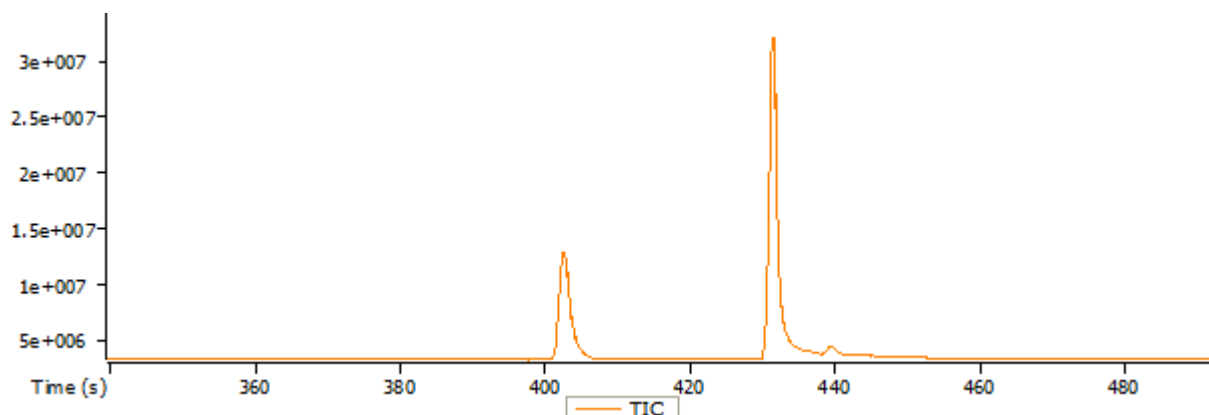


Рисунок 23 – Хроматограмма рабочего градуировочного раствора стандартного образца гераниола с внутренним стандартом пердейтерофталином

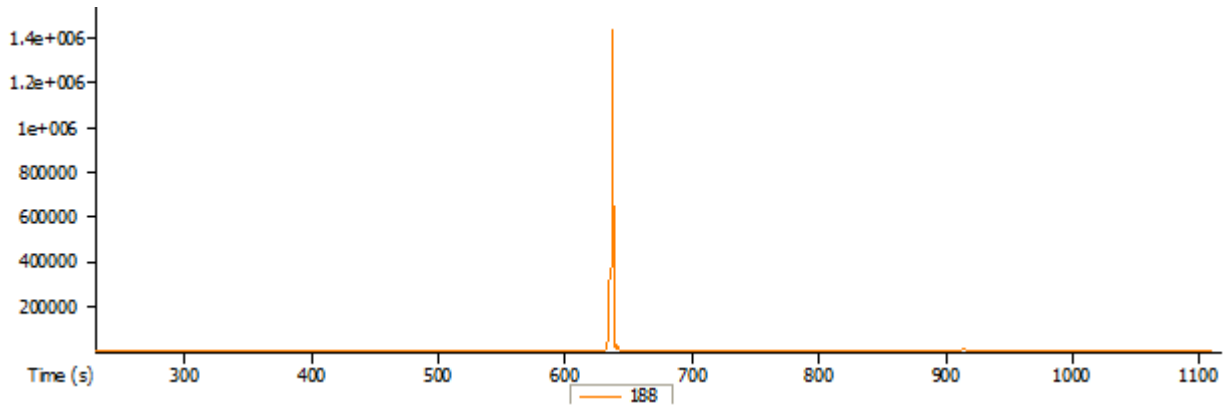


Рисунок 24 – Хроматограмма внутреннего стандарта фенантрена

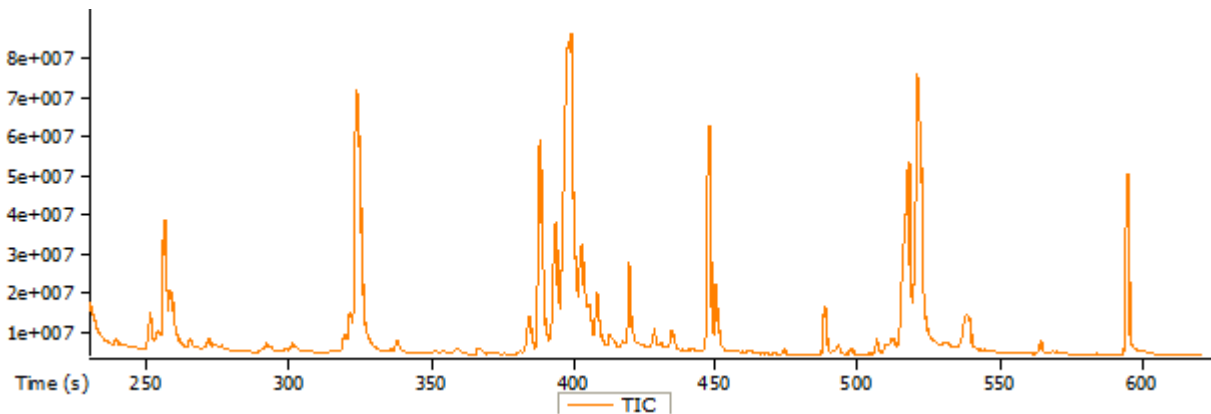


Рисунок 25 – Хроматограмма по полному ионному току дихлорметанового извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с внутренним стандартом фенантrenom

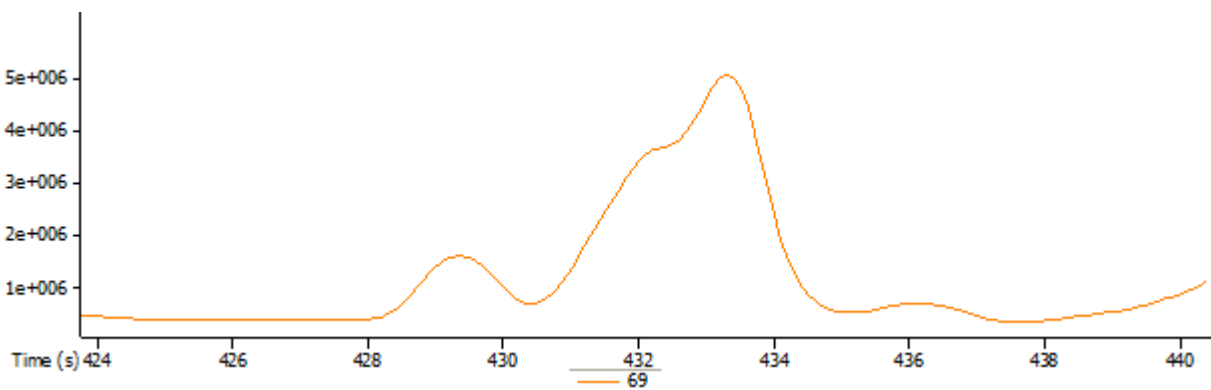


Рисунок 26 – Увеличенный фрагмент хроматографического пика гераниола из извлечения зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с внутренним стандартом фенантrenom

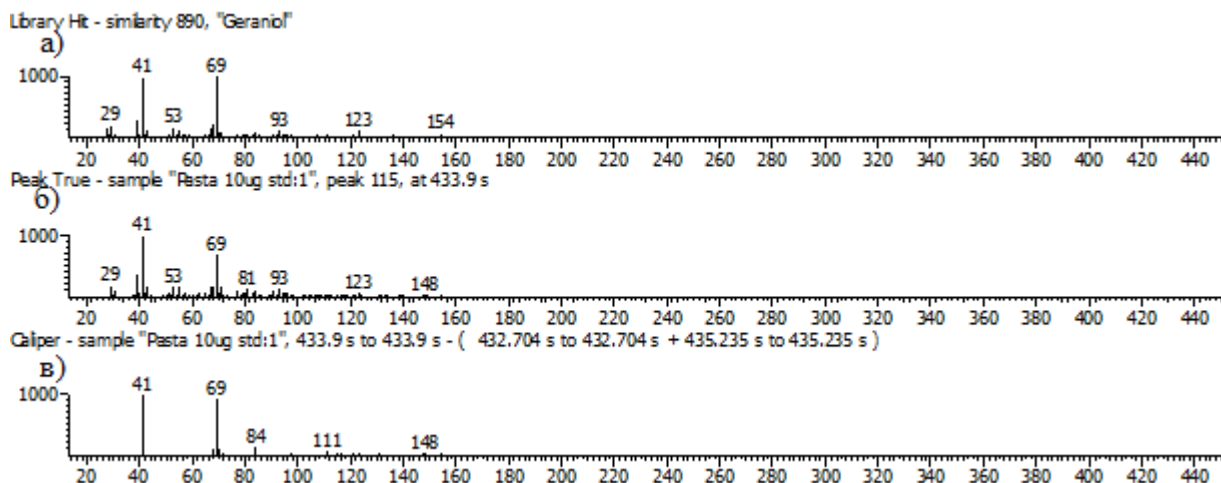


Рисунок 27 – Масс-спектры на вершине хроматографического пика 433,9с: а) библиотечный масс-спектр гераниола; б) индивидуальный масс-спектр гераниола (без учета фона); в) индивидуальный масс-спектр гераниола (с учетом фона).

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Качественный анализ зубной пасты и ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» показал, что наиболее эффективно и целесообразно включать эфирномасличные растения в состав или прописи зубных паст в виде эфирных масел, а не водно-спиртовых экстрактов. Это объясняется тем, что вещества-маркеры, а также фармакологически активные вещества данных растений частично переходят или не переходят из водно-спиртовых экстрактов в состав готовой продукции в силу их изначальной небольшой концентрации и возможного поглощения матрицей самой зубной пасты. Эфирные масла, наоборот, представляют собой концентрированные растворы перечисленных выше веществ, что позволяет им с минимальными потерями перейти в состав конечной продукции и тем самым оказывать заявленное производителем профилактическое действие. Наличие маслянистой консистенции позволяет избежать матричного эффекта зубной пасты.

2. На приведенных выше хроматограммах (рисунки 14, 21, 22) представлены наиболее важные и основные репрезентативные компоненты хроматографического профиля ЭМ герани: гераниол и цитронеллол. Концентрация этих двух действующих компонентов снижается значительно при переходе из ЭМ в зубную пасту. Это подтверждено расчетами количественного определения одного из главных БАВ ЭМ герани, гераниола, в самом масле, ополаскивателе для полости рта и зубной пасте «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

3. Разные значения количественного содержания гераниола в извлечении из зубной пасты SPLAT «Лечебные травы», полученные в результате одного и того же современного физико-химического метода анализа, но разных методик пробоподготовки исследуемых образцов, свидетельствуют о потерях ЭМ герани, в частности гераниола, в процессе подготовки пробы к анализу. Методика пробоподготовки для ГХ-анализа с ПИД отличается своей простотой

и позволяет избежать потери исследуемого действующего вещества ЭМ герани, поэтому для оценки стабильности зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» использовали метод ГХ на ПИД с соответствующей ему пробоподготовкой.

4. По результатам исследования видно, что концентрация гераниола, полученного из ЭМ, выше концентрации синтетического аналога, приведенной в приложение 2 ТР ТС 009/2011. Это объясняется тем, что ЭМ природного происхождения представляет собой концентрированную жидкость летучих монотерпеноидов. В таком случае гераниол должен быть указан в составе зубной пасты при маркировке согласно действующей нормативной документации. Этот факт показывает исключительность эфирных масел как отдельной группы лечебно-профилактических добавок. Полученные данные могут быть использованы в производстве СГПР при расчете количества ЭМ герани для получения соответствующей нормам концентрации гераниола в зубных пастах и ополаскивателях.

5. Разработаны методики количественного определения гераниола в зубных пастах и ополаскивателях, содержащих ЭМ герани (на примере ополаскивателей для полости рта и зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»).

ГЛАВА 6. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ОБРАЗЦОВ ЗУБНОЙ ПАСТЫ РАЗЛИЧНЫХ СЕРИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ЭФИРНОЕ МАСЛО ГЕРАНИ

Стабильность в течение срока годности – одно из основных требований, предъявляемых к любой продукции, особенно к продукции лечебно-профилактического назначения. Поскольку в состав зубной пасты SPLAT «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» входит ЭМ герани, обеспечивающее антисептические, антиоксидантные и антибактериальные свойства готовой продукции, то определение стабильности данного активного компонента в пересчете на гераниол в процессе хранения и установление норм его количественного содержания является актуальной и целесообразной задачей.

Для проведения испытаний объекты исследования были условно разделены на 3 категории образцов с учетом срока годности, даты вскрытия и даты проведения испытаний:

1. зубные пасты, выпущенные 05.06.2014г. и впервые открытые в день проведения испытания (июне 2014г.);
2. зубные пасты, выпущенные 05.06.2014г., впервые открытые в день проведения первичного испытания (июне 2014г.), отданные на вторичное исследование в июне 2015г.;
3. просроченные зубные пасты, выпущенные 01.01.2012г., впервые открытые в марте 2012г., отданные на первичное испытание в июне 2015г.

Для унификации результатов исследования нами были использованы результаты ранее проведенного количественного определения гераниола в ЭМ герани Bourbon (травы пеларгонии ароматной *Herba Pelargonii graveolensis*) (Франция). Концентрация гераниола в ЭМ герани составила 15,75г/100г в соответствии с таблицами 16, 17. и рисунком 21.

Концентрация гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» составила $2,07 \pm 0,0142$ мг/100г в соответствии с таблицей 19 и рисунком 22.

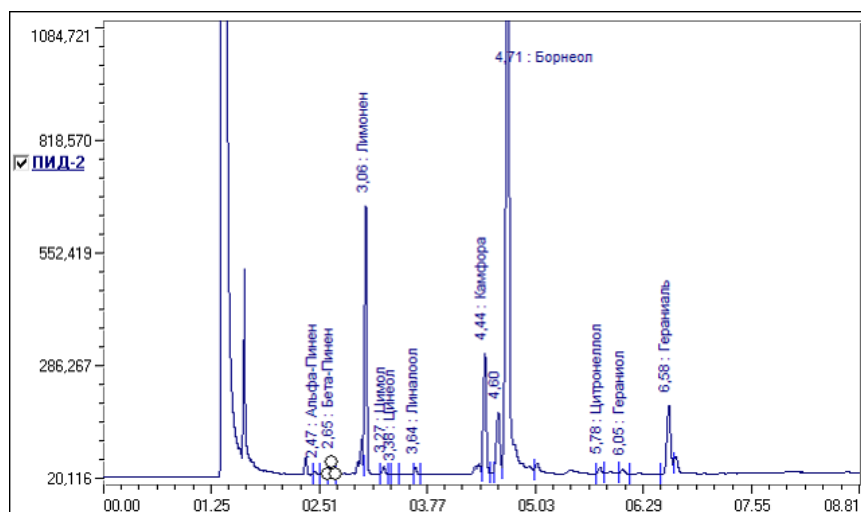


Рисунок 28 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 1 год хранения

Концентрация гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения составила $1,95 \pm 0,0145$ мг/100г в соответствии с таблицами 23, 24 и рисунком 29.

Таблица 23 – Результаты ГХ-МС анализа извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения

№	Время, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширин, сек
1	2,47	Альфа-Пинен	7,055	0,1583	0,3096	0,1946	2,00
2	2,65	Бета-Пинен	20,381	0,6022	0,8944	0,7402	2,16
3	3,06	Лимонен	508,867	11,3680	22,3309	13,9736	1,56
4	3,64	Линалоол	12,788	0,3603	0,5612	0,4429	1,84
5	4,44	Камфора	211,198	6,9497	9,2681	8,5426	2,28
6	4,60		104,150	3,9670	4,5705	4,8763	4,56
7	4,71	Борнеол	1309,742	53,8322	57,4762	66,1708	3,96
8	5,78	Цитронеллол	10,277	0,4493	0,4510	0,5523	3,48
9	6,05	Гераниол	8,331	0,3544	0,3656	0,4356	3,56
10	6,58	Гераниаль	85,968	3,3121	3,7726	4,0712	4,44
			2278,757	81,3535	100,0000	100,0000	

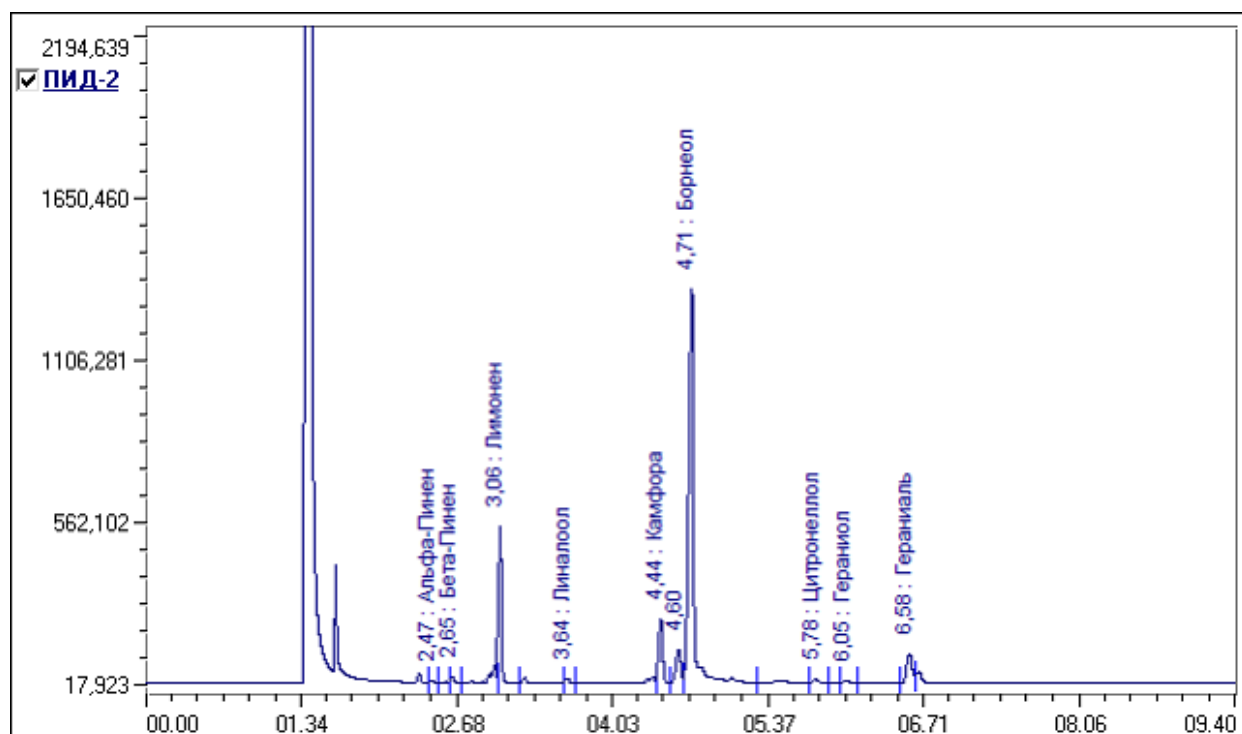


Рисунок 29 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения

Таблица 24 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения

Пробы пасты №	Площадь пика гераниола, мв*мин	Высота пика гераниола, мв	Время удерживания, мин	Концентрация гераниола, мг/100г			
1	0,3544	8,331	6,05	1,95			
2	0,3574	8,334	6,04	1,96			
3	0,3541	8,3307	6,06	1,94			
4	0,3524	8,329	6,05	1,93			
5	0,3554	8,332	6,05	1,95			
статистическая обработка концентраций гераниола							
X($\sum X/5$)	S ²	S	$\pm\Delta$	X+ Δ	X- Δ	E	E%
1,946	0,0002	0,0115	0,0145	1,9602	1,9318	0,0073	0,73

Примечание: n=5; C($\sum C/5$)= 1,95мг/100г

Концентрация гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» составила 1,37±0,0136мг/100г в соответствии с таблицами 25, 26 и рисунком 30.

Таблица 25 – Результаты ГХ-МС анализа извлечения из просроченной зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

№	Время, мин	Компонент	Высота, мв	Площадь, мв*мин	Высота, %	Площадь, %	Ширин, сек
1	2,47	Альфа-Пинен	4,285	0,0956	0,2480	0,1519	2,24
2	2,65	Бета-Пинен	17,093	0,4966	0,9892	0,7891	2,60
3	3,05	Лимонен	360,964	8,3722	20,8896	13,3024	1,60
4	3,27	Цимол	4,633	0,1310	0,2681	0,2082	2,64
5	3,40	Цинеол	0,187	0,0037	0,0108	0,0058	1,00
6	3,63	Линалоол	3,724	0,1122	0,2155	0,1783	1,68
7	4,44	Камфора	139,249	4,4569	8,0586	7,0814	2,20
8	4,59		70,622	2,7253	4,0870	4,3301	3,20
9	4,70	Борнеол	1044,033	41,9881	60,4198	66,7139	3,76
10	5,42		23,485	2,2474	1,3591	3,5709	4,80
11	6,04	Гераниол	6,347	0,2516	0,3673	0,3998	2,52
12	6,58	Гераниаль	53,343	2,0570	3,0871	3,2683	4,40
			1727,965	62,9375	100,0000	100,0000	

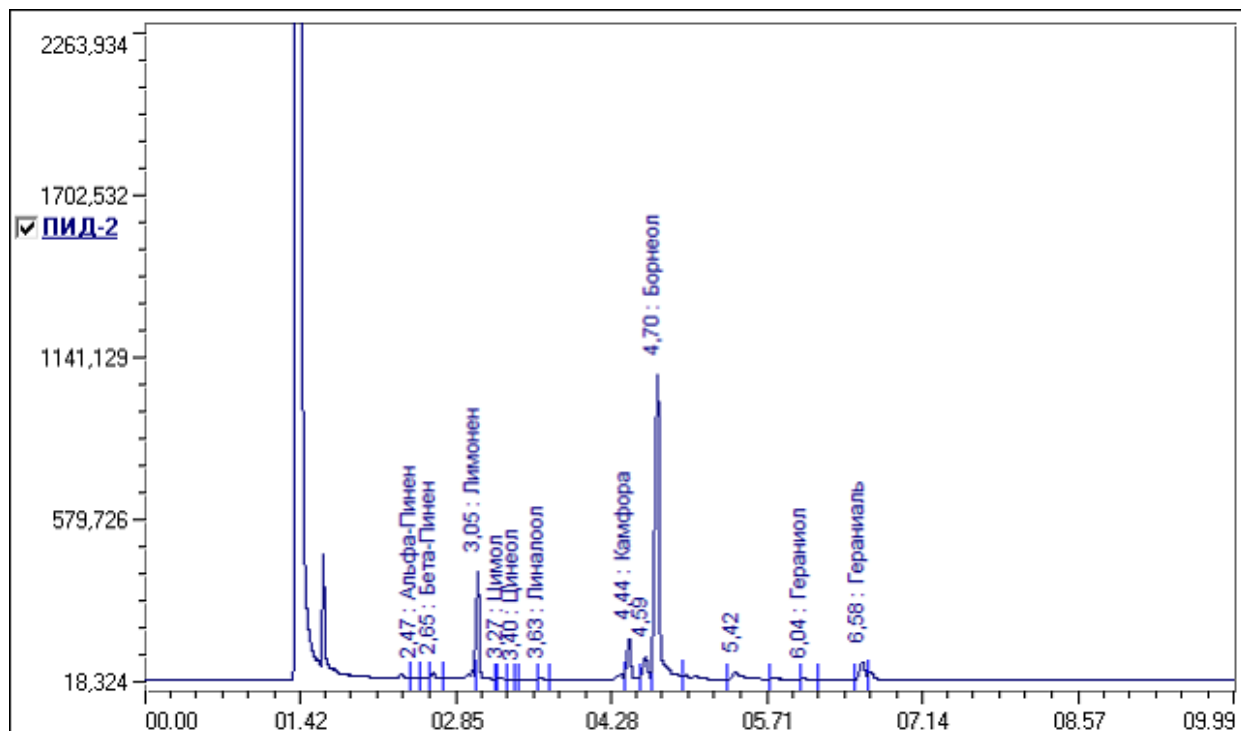


Рисунок 30 – Хроматограмма извлечения из просроченной зубной «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Таблица 26 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из просроченной зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Пробы пасты №	Площадь пика гераниола, мв*мин	Высота пика гераниола, мв	Время удерживания, мин	Концентрация гераниола, мг/100г			
1	0,2516	6,347	6,04	1,37			
2	0,2546	6,35	6,03	1,39			
3	0,2513	6,3467	6,04	1,37			
4	0,2496	6,345	6,05	1,36			
5	0,2526	6,348	6,04	1,37			
статистическая обработка концентраций гераниола							
$X(\sum X/5)$	S^2	S	$\pm\Delta$	$X+\Delta$	$X-\Delta$	E	E%
1,372	0,0001	0,011	0,0136	1,3856	1,3584	0,0099	0,99

Примечание: n=5; $C(\sum C/5)= 1,37\text{мг}/100\text{г}$

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Согласно данным на хроматограмме просроченной зубной пасты (3 категория) цитронеллол вообще отсутствует, что позволяет сделать 2 вывода:

а. выбор гераниола как характерного компонента и вещества-маркера ЭМ герани для количественной оценки является верным, несмотря на его меньшую концентрацию по сравнению с цитронеллолом;

б. наличие или отсутствие цитронеллолла также может служить индикатором срока годности зубных паст на основе ЭМ герани.

2. Срок годности зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» составляет 24 месяца. Хроматограммы выбранных объектов исследования продемонстрировали незначительное снижение концентрации гераниола (на 0,12 мг) с момента открытия упаковки зубной пасты до истечения срока годности, что может быть связано с окислением действующего вещества. По прошествии 1 года, концентрация гераниола падает примерно на 0,12 мг, а, по прошествии 2 лет на 0,24 мг. Данные хроматографического анализа просроченной пасты (по прошествии 3 лет) свидетельствуют о том, что даже по окончании срока годности зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» изменения концентрации гераниола составляют 0,7 мг. Таким образом, количественное содержание гераниола в течение всего срока годности, а также по его истечению сохраняется на достаточном уровне для проявления своих лечебно-профилактических свойств. Однако, следует обратить внимание на дату выпуска образцов зубных паст. До 2012 года компания-производитель SPLAT использовала эфирное масло одной компании-поставщика, а после 2012 года поставщик был заменен, что могло повлиять на состав конкретного эфирного масла, так как заготовка такого ЛРС как травы пеларгонии ароматной осуществляется от различных промышленных сортов производящего растения в разных районах или даже в разных странах. Как известно, накопление действующих веществ напрямую зависит от условий произрастания растения и от момента сбора ЛРС. Таким образом, можно сделать вывод о необходимости подробного изучения сортов ЭМ герани, используемых предприятиями-изготовителями, и разработки рекомендаций компаниям-производителям по рациональному выбору ЭМ герани конкретного производителя, характеризующегося максимальным содержанием гераниола и цитронеллола. Это позволит избежать значительного разброса в показаниях количественного содержания данных компонентов, как в эфирных маслах, так и в зубных пастах на основе этих масел.

ГЛАВА 7. ВАЛИДАЦИЯ ГХ-МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕРАНИОЛА В ЗУБНОЙ ПАСТЕ «SPLAT (СПЛАТ) MEDICAL HERBS / ЛЕЧЕБНЫЕ ТРАВЫ»

7.1. Количественное определение гераниола в зубной пасте «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» серии 04/10/19

Для уменьшения риска выпуска профилактических зубных паст ненадлежащего качества необходима их стандартизация за счет введения новых показателей качества, разработки новых и совершенствование существующих методик определения, которые должны пройти процедуру валидации и соответствовать ее требованиям. Эта процедура необходима для избегания появления ошибок в аналитической нормативной документации и препятствий для производителей и контролирующих органов при проведении лабораторного контроля и оценки качества выпускаемой продукции. Улучшение процесса стандартизации профилактических зубных паст, содержащих эфирные масла, возможно за счет введения нового показателя качества «Массовая доля характерного компонента» и совершенствование ГХ-методики определения эфирных масел.

Согласно впервые введенной ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ XIII издания методики количественного определения основного действующего вещества подлежат валидации для контроля качества лекарственных средств: фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, по следующим характеристикам:

1. специфичность (specificity);
2. аналитическая область (range);
3. линейность (linearity);
4. правильность (trueness);
5. прецизионность (precision);
 - 1) повторяемость (сходимость);
 - 2) промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность;
6. устойчивость (robustness) может определяться при необходимости.

ГХ-методика количественного определения гераниола в зубной пасте серии 04/10/19, содержащей эфирное масло герани, была валидирована по всем основным характеристикам методики количественного определения основного действующего вещества.

Расчет содержания гераниола в зубной пасте серии Professional «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs/Лечебные травы» осуществляли согласно *методу стандартных добавок*. Метод стандартных добавок основан на введении в анализируемую зубную пасту серии Professional «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs/Лечебные травы» известного количества гераниола в составе

эфирного масла герани и сравнения сигналов, полученных для испытуемого раствора со стандартной добавкой гераниола и без добавки. Концентрация гераниола определялась путем сравнения сигнала (площади пика), соответствующего гераниолу, на хроматограмме испытуемого раствора и сигнала (площади пика) гераниола на хроматограмме испытуемого раствора с известной добавкой гераниола. С учетом того, что гераниол вводят в состав зубной пасты в виде эфирного масла герани, а не индивидуального БАВ, то перед проведением его количественного определения необходимо стандартизовать эфирное масло герани по гераниолу. После проведения испытания сравнивали полученные значения интенсивности и рассчитывали количественное содержание гераниола C_x по формуле на рисунке 31:

$$C_x = C_{\text{std}} \cdot \frac{S_x}{S_{\text{std}+x} - S_x},$$

Рисунок 31

где C_x – концентрация стандартной добавки;

S_x – интенсивность сигнал определяемого вещества (площадь пика) для испытуемого раствора без стандартной добавки;

$S_{\text{std}+x}$ – интенсивность сигнал определяемого вещества (площадь пика) для испытуемого раствора со стандартной добавкой;

Методика определения содержания гераниола в зубной пасте, содержащей эфирное масло герани методом стандартных добавок.

Раствор стандартного образца гераниола

Около 0,17 г (точная навеска) стандартного образца гераниола (Sigma-Aldrich кат.№48798) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 10 мл спирта этилового 95%, доводили объем раствора спиртом этиловым 95% до метки и перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным (рисунок 33).

Раствор эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу

10 мл спирта этилового 95% помещали в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 25мл, отвешивали навеску 0,16 г (точная навеска) эфирного масла герани, полученного от компании-производителя SPLAT, помещали в УЗ-баню на 5-10 мин, доводили объем раствора спиртом этиловым 95% до метки (рисунок 32).

Испытуемый раствор без стандартной добавки

Около 20 г (точная навеска) зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs/Лечебные травы» помещали в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, прибавляли 25 мл спирта этилового 95% и проводили экстракцию на ультразвуковой бане в течение 45 мин. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр, после чего фильтрат помещали в

мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем фильтрата растворителем до метки. (рисунок 35).

Раствор сравнения №1 представляет собой *испытуемый раствор со стандартной добавкой гераниола в составе эфирного масла герани в размере 100мкл*

Около 20 г (точная навеска) зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs/Лечебные травы» помещали в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, добавляли 100 мкл эфирного масла герани, перемешивали шпателем до получения однородной массы, прибавляли 25 мл спирта этилового 95% и проводили экстракцию на ультразвуковой бане в течение 45 мин. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр, после чего фильтрат помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем фильтрата растворителем до метки (рисунок 39).

Раствор сравнения №2 представляет собой *испытуемый раствор со стандартной добавкой гераниола в составе эфирного масла герани в размере 200мкл*: см. аналогичную методику приготовления раствора №1 с учетом добавки гераниола в составе эфирного масла герани в размере 200мкл (рисунок 40).

Раствор сравнения №3 представляет собой *испытуемый раствор №3 со стандартной добавкой гераниола в составе эфирного масла герани в размере 300мкл*: см. аналогичную методику приготовления раствора №1 с учетом добавки гераниола в составе эфирного масла герани в размере 300мкл (рисунок 41).

Раствор сравнения №4 представляет собой *испытуемый раствор №4 со стандартной добавкой гераниола в составе эфирного масла герани в размере 400мкл*: см. аналогичную методику приготовления раствора №1 с учетом добавки гераниола в составе эфирного масла герани в размере 400мкл (рисунок 42).

Примечание: 100 мкл составляет 0,1650 г эфирного масла герани.

Методика проведения анализа

Последовательно хроматографировали 1 мкл раствора стандартного образца гераниола и 1 мкл раствора эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу. Равные объемы (около 20 г (точная навеска)) зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» помещали не менее, чем в пять плоскодонных колб вместимостью 50 мл. Во все колбы, кроме одной, прибавляли пропорционально увеличивающиеся объемы эфирного масла герани (100 мкл, 200 мкл, 300 мкл, 400 мкл) с известной концентрацией гераниола (стандартной добавки), перемешивали шпателем до получения однородной массы, прибавляли 25 мл спирта этилового 95% и проводили экстракцию на ультразвуковой бане в течение 45 мин. Полученные растворы фильтровали через бумажный фильтр, после чего фильтраты помещали в мерные колбы вместимостью 25 мл и доводили объемы фильтратов растворителем до метки. После чего последовательно

хроматографировали аликвоты (1 мкл) полученных испытуемого раствора без стандартной добавки и растворы сравнения №1,2,3,4.

Содержание гераниола в испытуемом растворе без стандартной добавки (в извлечении из зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» серии 04/10/19), при проведении ГХ-анализа на ПИД составило $4,759 \pm 0,0672$ мг/100г (0,005%).

7.2. Валидация методики количественного определения гераниола

1. Специфичность.

Специфичность – это способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов. Специфичность аналитической методики считается доказанной, если ни используемый растворитель, ни определенные примеси не искажают полученный результат в пределах требуемой точности.

Специфичность методики доказывается при помощи получения хроматограммы растворителя (спирт этиловый), хроматограммы стандартного образца гераниола и хроматограммы испытуемого образца (согласно рисункам 32, 33, 35).

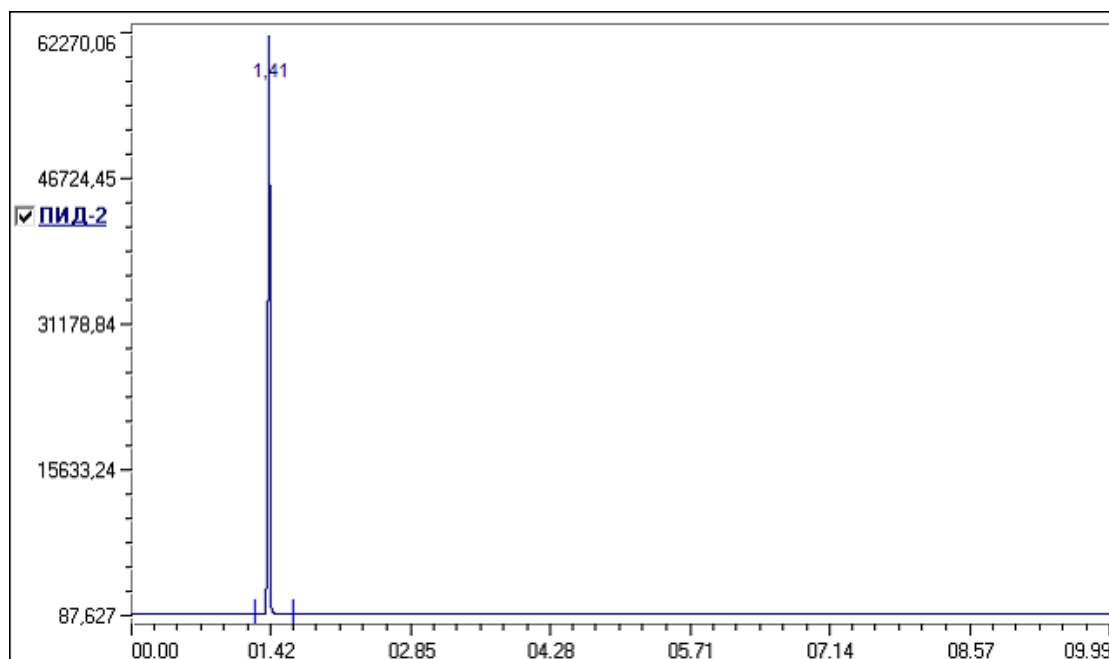


Рисунок 32 – Хроматограмма растворителя (спирт этиловый 95%)

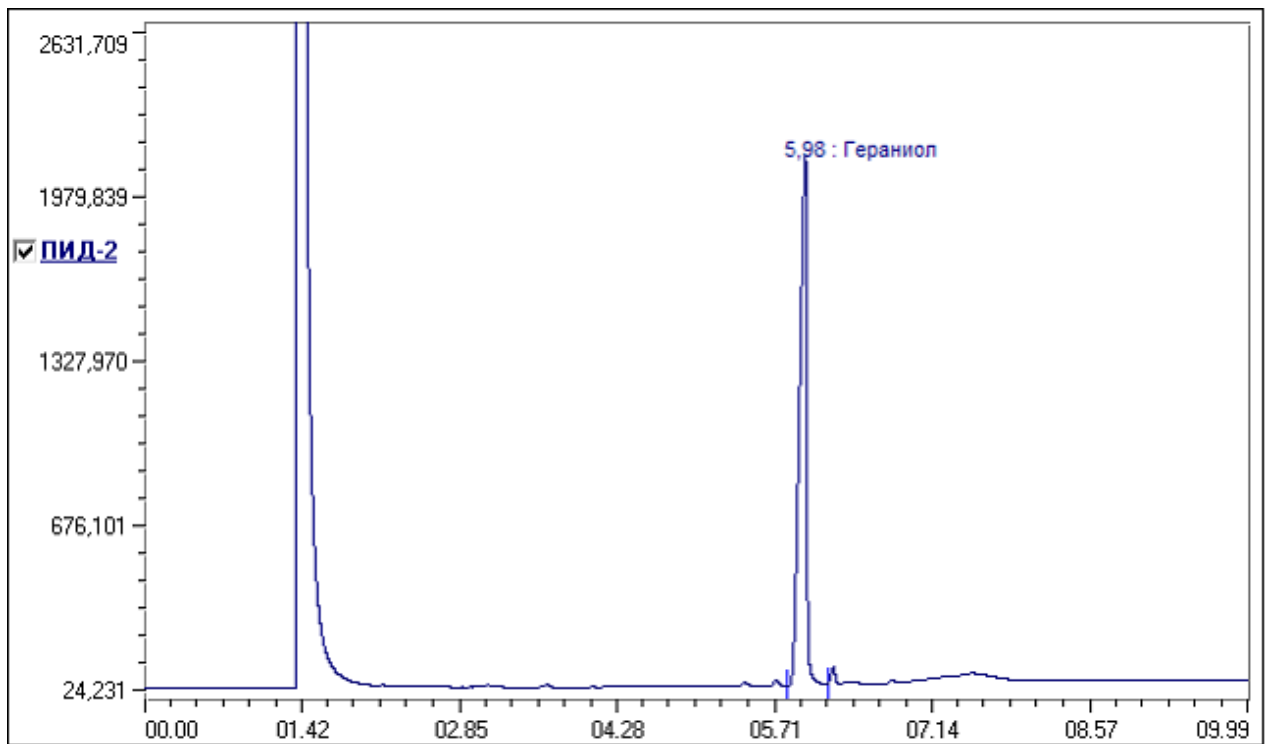


Рисунок 33 – Хроматограмма раствора стандартного образца гераниола

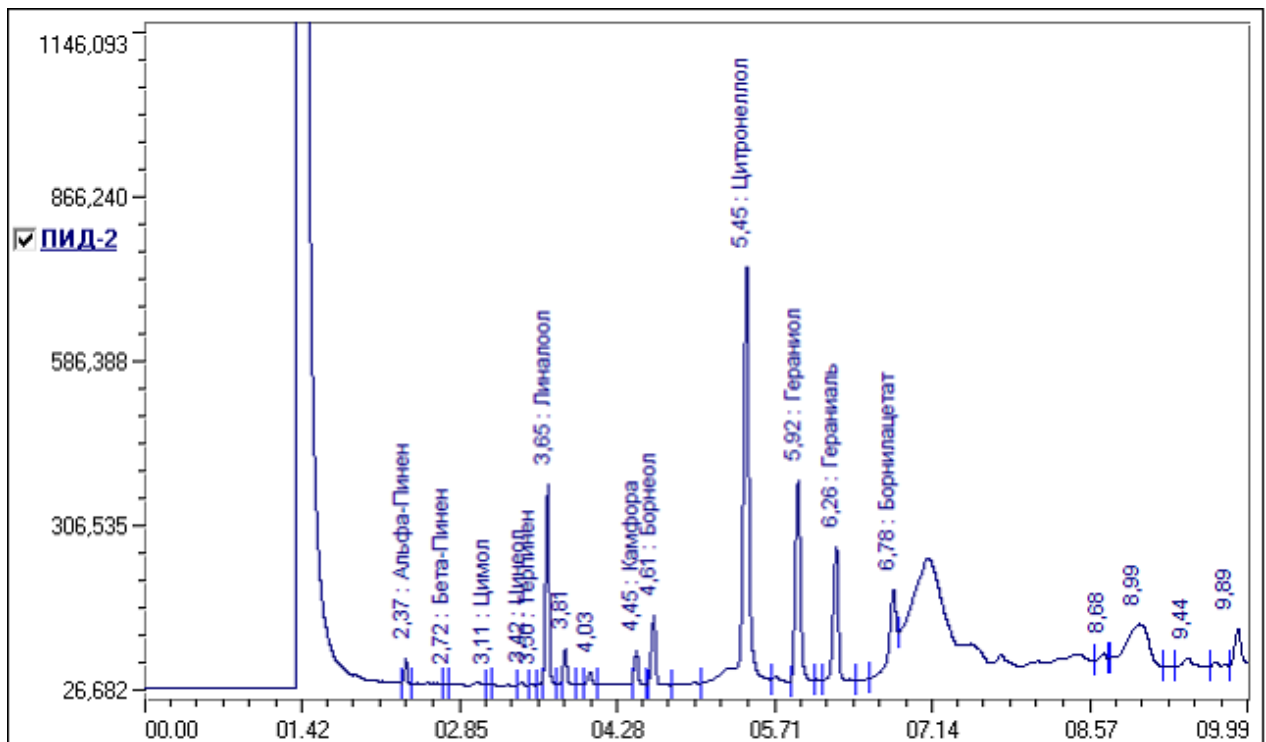


Рисунок 34 – Хроматограмма спиртового раствора эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу

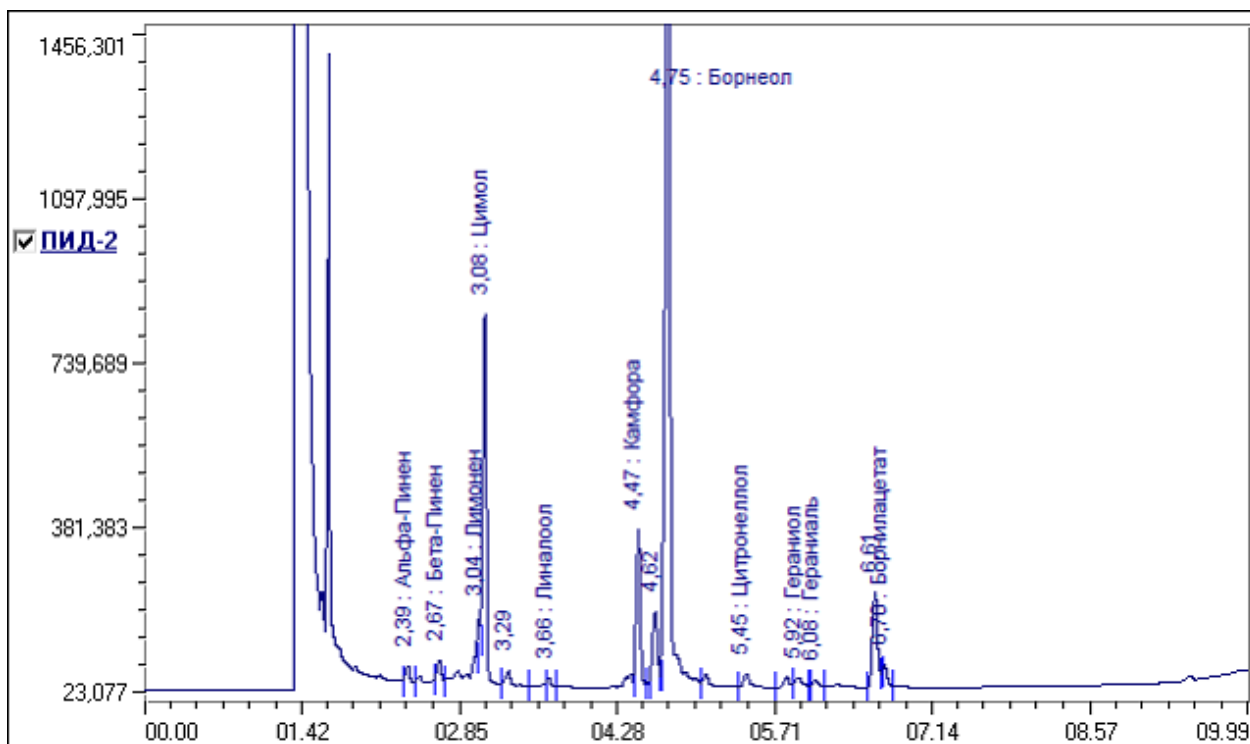


Рисунок 35 – Хроматограмма испытуемого раствора без стандартной добавки (извлечения из испытуемого образца зубной пасты)

Коэффициент асимметрии пика должен быть не выше 1,5; фактор разрешения пиков не менее 15; согласно условиям методики, можно сделать предварительный вывод, что методика специфична в отношении гераниола, так как присутствие сопутствующих веществ не влияет непредусмотренным образом на пик гераниола.

2. Прецизионность

Прецизионность – рассеяние результатов, получаемых с использованием методики, относительно величины среднего результата. Прецизионность оценивалась в двух вариантах:

а) **повторяемость (внутренняя прецизионность, сходимость)** оценивают по независимым результатам, полученным в одинаковых регламентированных условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах короткого промежутка времени.

Сходимость должна показать, что методика анализа образца при проведении в одинаковых условиях обеспечивает получение сравнимых результатов.

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, стандартного отклонения от среднего значения и доверительного интервала, приведенным в таблице 27, 28 и рисункам 36, 37, 38.

Таблица 27 – Результаты десяти определений содержания гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»

Обозначение анализа	Содержание гераниола в зубной пасте «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», мг/100 г пасты
1	4,81
2	4,72
3	4,74
4	4,75
5	4,63
6	4,60
7	4,85
8	4,91
9	4,80
10	4,78

Таблица 28 – Результаты статистической обработки данных внутренней прецизионности

Статистические характеристики	Результаты
Наибольшее значение, мг	4,91
Наименьшее значение, мг	4,60
Среднее значение, мг	4,759
Стандартное отклонение (S)	0,0941
Стандартное отклонение среднего результата (S_{σ})	0,0298
Доверительный интервал (p=95%)	4,759±0,0672
Относительное стандартное отклонение среднего результата ($S_{\sigma, \%}$) (коэффициент вариации)	1,41%

Примечание. Среднее значение определения вычисляется:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Рисунок 36

Стандартное отклонение среднего результата вычисляют:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n d_i^2}{f} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n\bar{x}^2}{f}; \quad S_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}.$$

$$s = \sqrt{s^2}.$$

Рисунок 37

Доверительный интервал рассчитывают по формуле:

$$x_i \pm \Delta x = x_i \pm t(P, f) \cdot s.$$

Рисунок 38

Величина стандартного отклонения обычно не должна превышать 10%. Исходя из имеющихся данных, можно предположить, что результаты, полученные в ходе валидации методики, сходимы.

б) **внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность** оценивается в условиях работы одной лаборатории (разные дни, разные исполнители, разное оборудование). Результаты расчетов приведены в таблице 29, 30.

Таблица 29 – десяти определений содержания гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» в разные дни

Обозначение анализа	Содержание гераниола в зубной пасте «Сплат Лечебные травы», мг/100 г пасты	
	День 1	День 2
1	4,72	4,92
2	4,74	4,89
3	4,75	4,80
4	4,63	4,78
5	4,60	4,75
6	4,85	4,64
7	4,91	4,93
8	4,80	4,81
9	4,78	4,76
10	4,81	4,72

Таблица 30 – Результаты статистической обработки данных внутрилабораторной прецизионности

Статистические характеристики	Результаты	
	День 1	День 2
Наименьшее значение	4,60	4,64
Наибольшее значение	4,91	4,93
Среднее значение	4,759	4,80
Стандартное отклонение	0,0941	0,0919
Стандартное отклонение среднего результата	0,0298	0,0291

Доверительный интервал	4,759±0,0672	4,80±0,0657
Относительное стандартное отклонение среднего результата	1,41%	1,37%
F (5%; 9;9) = 1,023	Контрольное значение: 3,14	
t (5%;10) = 0,30	Контрольное значение: 2,26	

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости вместе с набором данных, полученных при выполнении методики в другой день в одной и той же лаборатории.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, отклонений от среднего значения и доверительных интервалов для среднего значения ($n \geq 10$, $P=95\%$, соответствует $\alpha = 0,05$ или 5%).

3. Аналитическая область методики

Аналитическая область методики – это интервал между верхним и нижним значением аналитических характеристик определяемого компонента в объекте анализа (его количества, концентрации, активности и т.п.).

Согласно данным внутренней прецизионности доверительный интервал ($p=95\%$) составил 4,759±0,0672 мг.

Согласно данным внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности доверительный интервал ($p=95\%$) составил в 1 день 4,759±0,0672 мг, а во 2 день – 4,80±0,0657 мг.

4. Правильность

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное.

Правильность аналитической методики количественного определения доказывается на всем диапазоне применения, то есть методика должна давать отсутствие систематической ошибки и близость результатов. Проверка правильности исполнения методики заключается в отсутствии систематической ошибки измерений при добавке к испытуемому раствору известного количества стандартизованного по гераниолу ЭМ герани. Результаты анализа правильности приведены в таблице 31 и рисунках 39, 40, 41, 42.

Таблица 31 – Результаты статистической обработки данных правильности

Взято в образце, мг	Добавлено масла в пересчете на гераниол, мг	Должно быть, мг	Найдено, мг	Ошибка	
				Абсолютная, мг	Относительная, %
4,81	20,77	25,58	25,13	- 0,45	- 1,76
4,81	43,31	48,12	50,06	+ 1,94	+ 4,03
4,81	65,60	70,41	68,17	- 2,24	- 3,18

4,81	87,70	92,51	94,08	+ 1,57	+ 1,70
------	-------	-------	-------	--------	--------

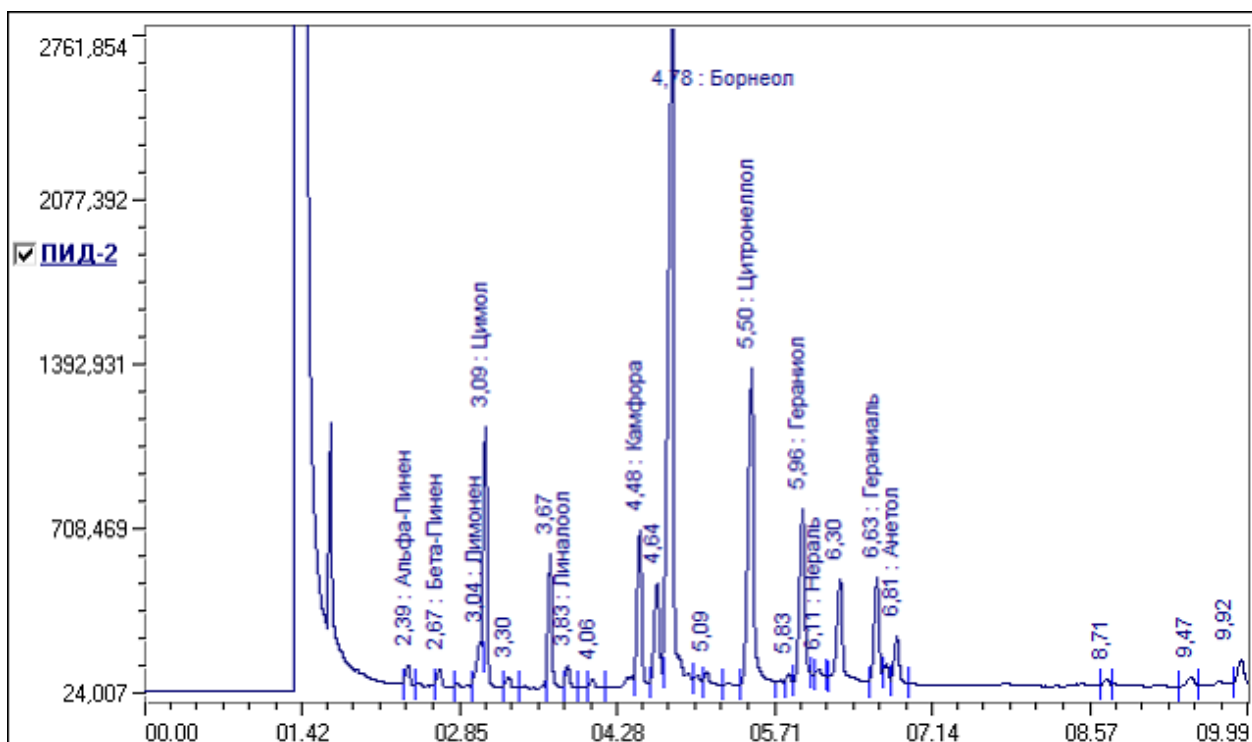


Рисунок 39 – Хроматограмма раствора сравнения №1 (20,77 мг гераниола в 100 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)

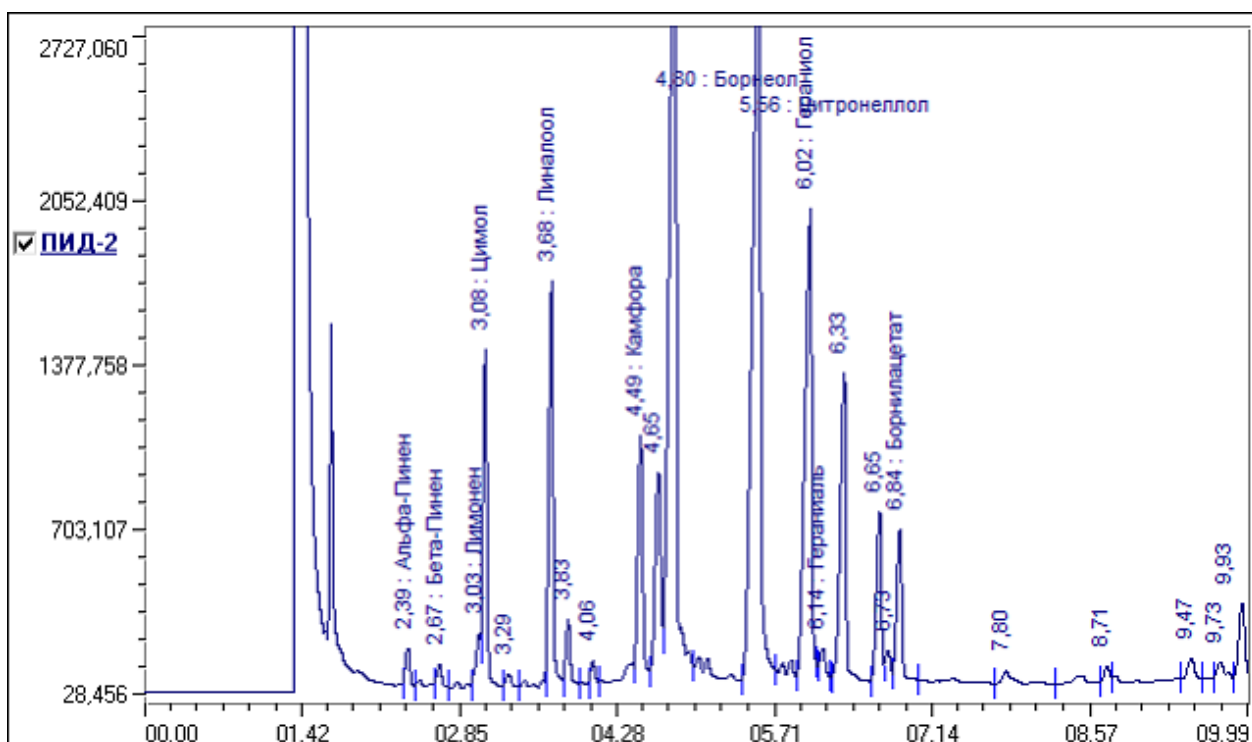


Рисунок 40 – Хроматограмма раствора сравнения №2 (43,31 мг гераниола в 200 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)

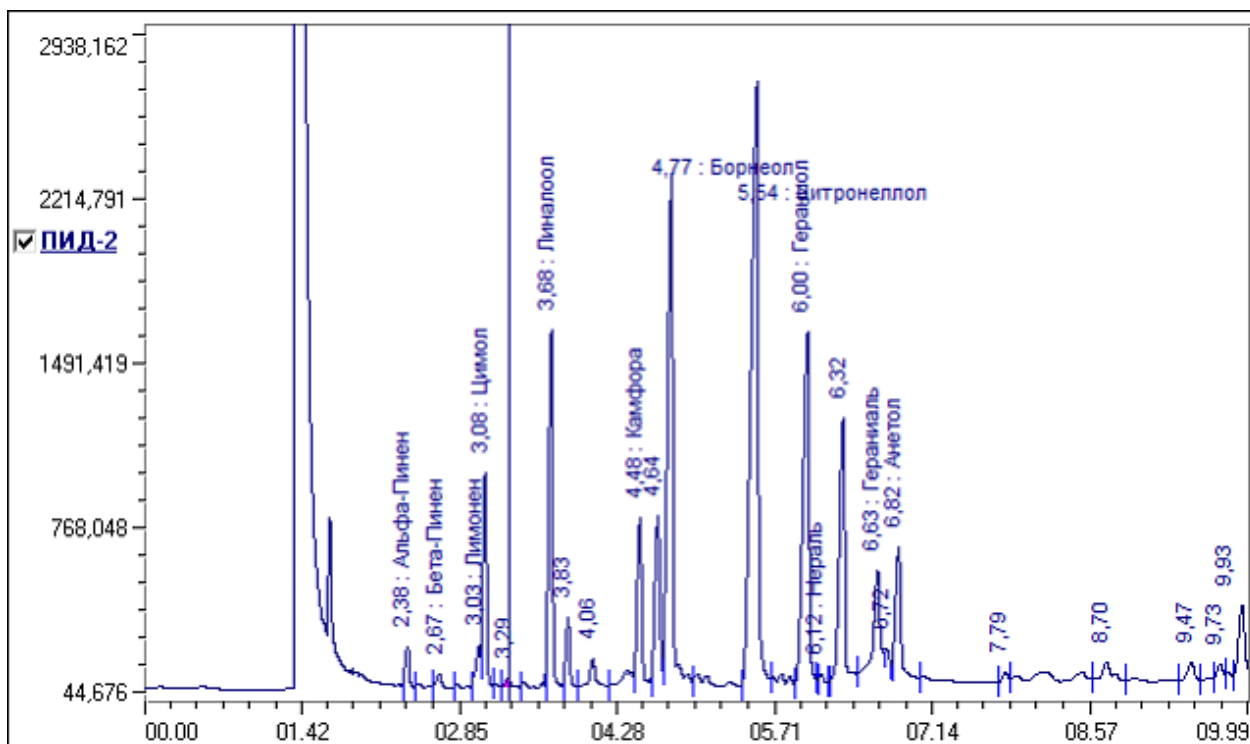


Рисунок 41 – Хроматограмма раствора сравнения №3 (65,60 мг гераниола в 300 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)

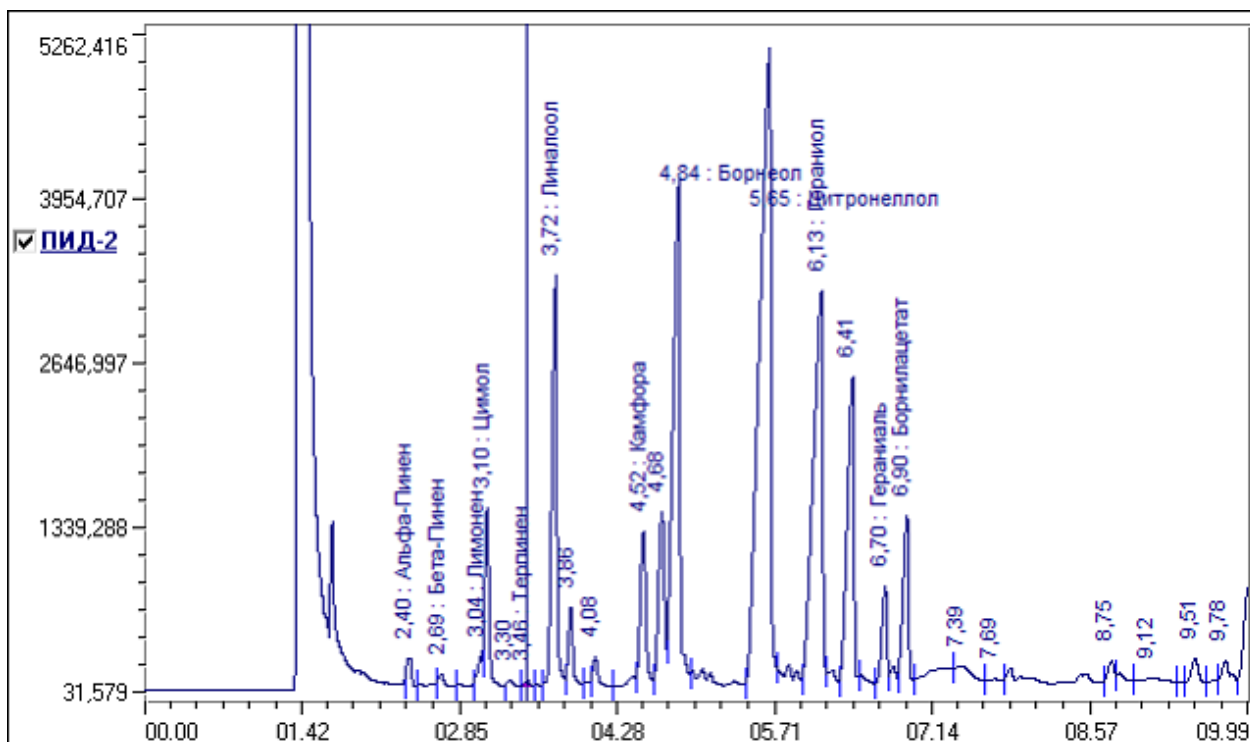


Рисунок 42 – Хроматограмма раствора сравнения №4 (87,70 мг гераниола в 400 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)

Таким образом, относительная ошибка результатов опытов с добавками не превышает относительную ошибку единичного определения и имеет отклонения в сторону как положительных, так и отрицательных значений, что свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки в предлагаемой методике анализа.

5. Линейность

Линейность методики – это наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики.

Линейность аналитической методики доказана, если в выбранном диапазоне применения можно показать прямо пропорциональное соотношение между концентрацией исследуемого вещества в растворе и сигналом детектора (площадью пика гераниола в серии испытываемых растворов).

Линейность методики подтверждается в диапазоне концентраций от 80% до 120% действующего вещества в испытываемом образце.

Характеристики линейности методики выражаются в виде коэффициента корреляции, наклона прямой, а также величины отрезка на оси ординат.

Линейность описывается уравнением регрессии, приведенном на рисунке 43:

$$y = ax + b, \text{ где}$$

Рисунок 43

y – площадь пика определяемого вещества;

a – тангенс угла наклона прямой;

b – сдвиг прямой от нулевой точки;

x – концентрация определяемого вещества, массовые доли.

Результаты статистической обработки данных линейности приведены в таблице 32 и рисунке 44.

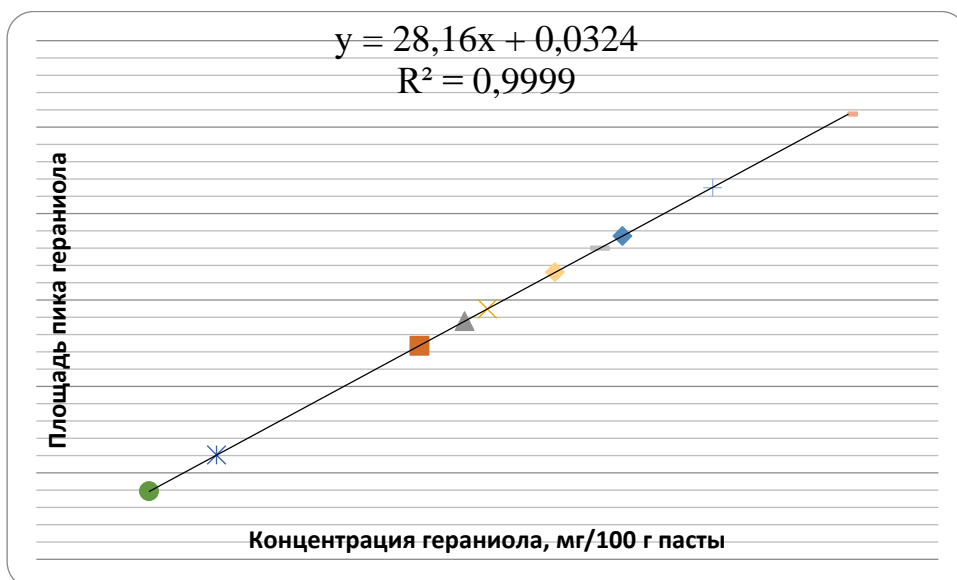


Рисунок 44 – Линейная зависимость содержания гераниола от площадей его пиков на хроматограмме

Таблица 32– Результаты статистической обработки данных линейности

Статистические характеристики	Результаты
Наклон (а) (тангенс угла наклона)	28,16
Отрезок на оси ординат (b)	0,0324
Доверительный интервал значений	4,759±0,0672 мг/100 г пасты

6. Устойчивость

Устойчивость методики – это способность сохранять найденные для нее в оптимальных (номинальных) условиях характеристики, приведенные в таблице, при вероятных небольших отклонениях от этих условий проведения анализа. Оценка устойчивости проводят с помощью проверки пригодности аналитической системы, под которой понимают проверку выполнения основных требований, предъявляемых к ней. Требования к такой системе обычно конкретизированы в общей фармакопейной статье (ОФС) на соответствующий аналитический метод. Оценка пригодности хроматографической системы проводили согласно обновленной ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография» ГФ XIII издания.

Пригодность метода достигается при эффективности хроматографической колонки, рассчитанной по пику гераниола на хроматограмме стандартного раствора; метод считается пригодным, если число теоретических тарелок не менее 45000 (рисунок 45).

$$N = 16 \cdot (t_R / W_b)^2 = 5.545 \cdot (t_R / W_h)$$

Рисунок 45

В случае анализа раствора стандартного образца гераниола число теоретических тарелок составляет более 55000, таким образом, хроматографическая система является пригодной для количественного определения гераниола в зубной пасте «Сплат Лечебные травы».

Проверка пригодности хроматографической системы

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- ✓ эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику **гераниола**, более 55000 теоретических тарелок;
- ✓ фактор асимметрии (A_s) не выше 1,5;
- ✓ относительное стандартное отклонение (RSD) 1,41%.
- ✓ время удерживания гераниола 5,98 мин.

Таблица 33 – Критерии приемлемости валидируемой методики

Параметр валидации	Критерии приемлемости
Специфичность	Степень разделения пика гераниола на хроматограмме испытуемого раствора более 1,5
Пригодность	Эффективность колонки выше 50000 тг.
Сходимость	Ошибка среднего единичного определения не превышает 2%
Внутрилабораторная прецизионность	Ошибка среднего единичного определения при сравнении 2-х повторностей не превышает 1,41%
Линейность	Подтверждается в диапазоне концентраций от 80% до 120%
Правильность	Относительная ошибка измерений в опытах с добавками не превышает 5%

Согласно проведенным расчетам, методика специфична (ни растворитель, ни примеси не мешают разделению пика гераниола от других компонентов эфирного масла на хроматограмме); пригодность, сходимость и воспроизводимость доказывают, что ошибки единичных определений находятся в пределах адекватных значений; линейность показывает, что методика достоверна в пределах от 80% до 120% от концентрации гераниола; правильность доказана путем использования добавок к испытуемому раствору известного количества стандартизованного по гераниолу ЭМ герани – относительные ошибки измерений не являются систематическими, а носят случайный характер.

Таким образом, доказано, что методики **валидирована** согласно таблице 33.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7

1. На хроматограмме растворителя (спирта этилового) отсутствуют пики, по времени удерживания совпадающие с гераниолом, что подтверждает **специфичность** методики.
2. Валидируемая методика является **правильной**, так как содержание гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» серии 04/10/19 (4,81 мг) лежит внутри доверительного интервала соответствующих средних значений $4,759 \pm 0,0672$ мг/100г, полученных экспериментально методом стандартных добавок, а относительные ошибки измерений не являются систематическими, а носят случайный характер.
3. **Линейность** методики подтверждается в диапазоне концентраций от 80% до 120% гераниола в извлечении из зубной пасты SPLAT «Лечебные травы» серии 04/10/19 путем построения калибровочной кривой (коэффициент корреляции $r=0,9999$ отвечает линейной зависимости).

4. **Прецизионность** методики подтверждена путем анализа 10 образцов одной серии 04/10/19 зубной пасты SPLAT «Лечебные травы». Величина относительного стандартного отклонения составила 1,41%, что соответствует нормам (не более 2%).
5. Оценка **пригодности** хроматографической системы подтвердила надлежащее функционирование этой системы, что обеспечивает выполнение предъявляемых к ней требований.
6. Полученные результаты доказывают, что ошибки единичных определений находятся в пределах **аналитической области методики**.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведен анализ требований действующей НД на СГПР в Российской Федерации (ТР ТС 009/2011, ГОСТ 7983-99, ГОСТ Р 51577-2000), Евросоюзе и США. Выявлено, что за исключением регламентированного содержания фторид-ионов в современной НД на зубные пасты и ополаскиватели отсутствуют физико-химические показатели и методики их испытаний, характеризующие качество лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС в составе СГПР. Разработан методический подход к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС, в котором отражен новый подход к анализу репрезентативных и характерных компонентов ЭМ, экстрактов в составе СГПР.

2. Обоснован выбор метода газовой хроматографии в качестве современного метода контроля качества СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС для определения в них репрезентативных и характерных компонентов терпеноидной природы.

3. В результате сравнительного ГХ анализа качественного состава лечебно-профилактических добавок, используемых при производстве зубных паст и ополаскивателей для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы», и соответствующего фармакопейного ЛРС, а также показателей качества ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания были идентифицированы репрезентативные компоненты или специфические вещества-маркеры для каждой добавки: для водно-спиртового экстракта цветков ромашки – фарнезен и бисаболол оксид А, для водно-спиртового экстракта листьев шалфея – борнилацетат, борнеол, туйоны, α -пинен, β -пинен, для ЭМ герани – цитронеллол, гераниол, нераль, гераниаль, линалоол. Данные репрезентативные компоненты лечебно-профилактических добавок были также обнаружены в спиртовых и дихлорметановых извлечениях исследуемых зубных паст и ополаскивателей в результате качественного анализа.

4. Обоснован выбор и даны рекомендации по введению в состав СГПР ЭМ как лучшего вида лечебно-профилактической добавки эфирномасличного ЛРС по сравнению с водно-спиртовыми экстрактами.

5. Установлены концентрации природного гераниола в ЭМ герани, зубных пастах и ополаскивателях для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» соответственно: 16%; 0,001-0,002% (выпуск паст до внедрения ГХ методики количественного определения гераниола в зубных пастах); 0,005% (выпуск паст после внедрения ГХ методики), 0,007%. С учетом отнесения гераниола к частично смываемым веществам из-за малой растворимости в воде, а также ограничений для синтетического гераниола под номером 78 в перечне веществ приложения 2 ТР ТС -009-2011, полученные концентрации гераниола в исследуемых СГПР соответствуют диапазону нормируемых значений [0,001%;0,01%]. Этого содержания достаточно для оказания антибактериального действия на биопленки полости рта.

Однако, концентрация природного гераниола, в составе такой лечебно-профилактической добавки, как ЭМ герани, выше концентрации синтетического аналога, что говорит о необходимости указывать ее в составе СГПР при маркировке. Полученные данные могут быть использованы в производстве СГПР при расчете количества ЭМ герани для получения соответствующей нормам концентрации гераниола в зубных пастах и ополаскивателях. Результаты исследования показывают исключительность ЭМ как отдельной группы лечебно-профилактических добавок, содержание которой должно быть регламентировано в НД в виде новых физико-химических показателей (в данном случае массовой доли гераниола) и методик их определения.

6. Оценка стабильности ЭМ герани по изменению концентрации гераниола (по прошествии 1 года концентрация падает примерно на 0,12 мг, а, по прошествии 2 лет на 0,24 мг) в составе зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» при их хранении в рекомендованных производителем условиях подтвердила правильность выбора гераниола в качестве характерного компонента ЭМ герани. Количественное содержание гераниола в зубных пастах в течение всего срока годности, а также по его истечению сохраняется на достаточном уровне для проявления своих профилактических свойств.

7. Методика количественного определения гераниола в зубных пастах методом газовой хроматографии валидирована по следующим характеристикам: специфичность, прецизионность (повторяемость, внутрилабораторная прецизионность), аналитическая область методики, правильность, линейность, устойчивость, пригодность хроматографической системы, на примере зубных паст «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».

Практические рекомендации. Разработанные проекты методики количественного определения гераниола в ополаскивателях, содержащих ЭМ герани; методик идентификации репрезентативных компонентов лечебно-профилактических добавок в составе зубных паст и ополаскивателей для полости рта, а также методики подтверждения качества ЭМ герани согласно требованиям и методикам ОФС.1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» ГФ XIII издания могут быть внедрены в менеджмент качества ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА».

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в дальнейшем изучении эфирных масел и создании их номенклатуры для включения в состав СГПР.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АзА – азадирактин А;
- АТФ – аденозинтрифосфат;
- АТФаза – аденозинтрифосфатаза;
- БАВ – биологически активные вещества;
- БАД – биологически активные добавки;
- ВЗП – воспалительные заболевания пародонта;
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения;
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
- ГОСТ – государственный стандарт;
- ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств;
- ГФ – Государственная фармакопея;
- ГХ – газовая хроматография;
- ГХ-МС – газовая хроматография/масс-спектрометрия;
- ЕС – Европейский союз;
- ЖХ – жидкостная хроматография;
- ЛРП – лекарственный растительный препарат;
- ЛРС – лекарственное растительное сырье;
- ЛС – лекарственное средство;
- МБК – минимально бактерицидная концентрация;
- МКБ – Международная классификация болезней;
- МПК – минимально подавляющая концентрация;
- МС – масс-спектрометрия;
- НД – нормативная документация;
- ОФС – общая фармакопейная статья;
- ПЭГ – полиэтиленгликоль;
- РФ – Российская Федерация;
- СГПР – средства гигиены полости рта;
- СНГ – Содружество Независимых Государств;
- СО – стандартный образец;
- СОР – слизистая оболочка рта;
- СТБ – национальный стандарт Белоруссии;
- ТР ТС – Технический регламент Таможенного союза;
- ТСХ – тонкослойная хроматография;

ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации;

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

ПВД – пламенно-ионизационный детектор;

ФС – фармакопейная статья;

ХГ – хлоргексидин;

ЦПМ – цитоплазматическая мембрана;

ЭМ – эфирные масла;

ЮНЕП – Программа Организации Объединенных Наций по окружающей среде;

ADA – American Dental Association;

BIS – Bureau of Indian Standards;

ВОР – Bleeding on probing;

ВР – British Pharmacopoeia;

EI – electron ionization;

FDA – Food and Drug Administration;

GI – Gingival Index;

ISO – International Organization for Standardization;

MGI – Modified Gingival Index;

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia;

PI – Plaque Index;

PVM/MA – polyvinyl-methyl ether maleic acid;

QHI – Quigley-Hein Plaque Index;

SRP – Scaling and Root Planing;

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Астраханова, М.М. Взаимосвязь фитопрепаратов, экологии и здоровья человека / М.М. Астраханова, В.Ф. Охотникова // Сеченовский вестник. – 2013. – Т. 11 – № 1. – С. 66.
2. Баландина, И.А. Экспертиза качества лекарственных растительных препаратов для медицинского применения / И.А. Баландина, Е.Л. Ковалева // Сеченовский вестник. – 2013. – Т. 11 – № 1. – С. 67–68.
3. Береза, Н.С. Падуб парагвайский как сырье для создания нового лекарственного препарата / Н.С. Береза, Л.А. Павлова, С.В. Козин, Ю.О. Теселкин // Сеченовский вестник. – 2013. – Т. 11 – № 1. – С. 69.
4. Гажва С.И. Оптимизация консервативного лечения хронических генерализованных пародонтитов легкой и средней степени тяжести с использованием различных антибактериальных препаратов / С.И. Гажва, А.И. Воронина // Обзорение. Стоматология. – 2010. – Т. 70 – № 2. – С. 14.
5. Гингивит и болезни пародонта [Электронный ресурс] // Международная классификация болезней МКБ-10. URL: <http://www.mkb10.ru/?class=11&bloc=111&diag=4586> (дата обращения: 13.10.2016).
6. ГОСТ 14618.5-78 Масла эфирные, вещества душистые и полупродукты их синтеза. Газохроматографический метод анализа [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://standard.gost.ru/wps/portal!/ut/p/c4/04> (дата обращения: 13.10.2016).
7. ГОСТ 7983-99 Пасты зубные. Общие технические условия [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=138575> (дата обращения: 13.10.2016).
8. ГОСТ ISO 11024-1-2014 Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 1. Подготовка хроматографических профилей для представления в стандартах [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://protect.gost.ru> (дата обращения: 13.10.2016).
9. ГОСТ ISO 11024-2-2015. Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 2. Применение хроматографических профилей проб эфирных масел [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=201435> (дата обращения: 13.10.2016).
10. ГОСТ ISO 22972-2014 Масла эфирные. Анализ методом газовой хроматографии на хиральных капиллярных колонках. Общий метод [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL:

<http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=188006> (дата обращения: 13.10.2016).

11. ГОСТ ISO 356-2014 Масла эфирные. Подготовка проб для испытаний [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=187676> (дата обращения: 13.10.2016).

12. ГОСТ ISO 7609-2014 Масла эфирные. Анализ методом газовой хроматографии на капиллярных колонках. Общий метод [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=188005> (дата обращения: 13.10.2016).

13. ГОСТ Р 51577-2000. Средства гигиены полости рта жидкие. Общие технические условия [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=138319> (дата обращения: 13.10.2016).

14. Государственная фармакопея СССР. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1081 с.

15. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.

16. Грудянов, А.И. Заболевания пародонта : учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей стоматологов / А. И. Грудянов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2009. – 336 с.

17. Грудянов, А.И. Диагностика в пародонтологии / А. И. Грудянов, А. С. Григорьян, О. А. Фролова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 104 с.

18. Грудянов, А.И. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта / А. И. Грудянов, В. В. Овчинникова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – 80 с.

19. Грудянов, А.И. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта / А. И. Грудянов, Е. В. Фоменко. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 96 с.

20. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) [Электронный ресурс] // Официальный сайт Евразийской экономической комиссии. URL:http://www.tsouz.ru/KTS/KTS17/Pages/P2_299.aspx (дата обращения: 13.10.2016).

21. Иванов, В.С. Заболевания пародонта / В. С. Иванов. – 4-е изд.– М.: Медицинское информационное агентство, 2001. – 300 с.

22. Кузьменко, А.Н. Стандартизация лекарственного растительного сырья и растительных сборов методами ионо-эксклюзионной и газо-жидкостной хроматографии: автореф. дис. ... док. фарм. наук: 14.04.02 / Кузьменко Алексей Николаевич. – Москва, 2013. – 40 с.

23. Михайлова, Г.В. Фитопрофилактика как важная составляющая современной

медицины / Г.В. Михайлова // Сеченовский вестник. – 2013. – Т. 11 – № 1. – С.78–79.

24. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия : учебник / Д. А. Муравьева, И. А. Самылина, Г. П. Яковлев. – 4-е изд. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

25. Орехова, Л.Ю. Заболевания пародонта / Л. Ю. Орехова. – М.: Поли Медиа Пресс, 2004. – 432 с.

26. Официальный сайт U.S. Food and Drug Administration [Электронный ресурс]. URL: <http://www.fda.gov/Cosmetics/GuidanceRegulation/LawsRegulations/ucm074201.htm>. (дата обращения: 13.10.2016).

27. Официальный сайт некоммерческой организации Neem Foundation [Электронный ресурс]. URL: <http://www.organeem.com/activeconstituentsofneem.html> (дата обращения: 13.10.2016).

28. ОФС.1.2.1.0012.15 Температура затвердевания [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 569–572.

29. ОФС.1.2.1.0014.15 Плотность [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 577–580.

30. ОФС.1.2.1.0017.15 Рефрактометрия [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 603–604.

31. ОФС.1.2.1.0018.15 Поляриметрия [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 605–608.

32. ОФС.1.2.1.1.0008.15 Масс-спектрометрия [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 408–423.

33. ОФС.1.2.1.2.0004.15 Газовая хроматография [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 491–495.

34. ОФС.1.2.3.0007.15 Перекисное число [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. I. – С. 739–741.

35. ОФС.1.4.1.0001.15 Лекарственные формы // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. II. – С. 10–18.

36. ОФС.1.4.1.0008.15 Мази [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. II. – С. 67–73.

37. ОФС.1.4.1.0021.15. Экстракты [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. II. – С. 134–141.

38. ОФС.1.5.1.0001.15 Лекарственное растительное сырье. Фармацевтические субстанции растительного происхождения [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. II. – С. 265–271.

39. ОФС.1.5.2.0001.15 Эфирные масла [Электронный ресурс] // Государственная

фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. II. – С. 336–343.

40. Перечень стандартов, содержащих правила и методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимые для применения и исполнения требований технического регламента Таможенного союза «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. URL: <http://www.gostinfo.ru/trts/List/1> (дата обращения: 13.10.2016).

41. Письмо Роспотребнадзора от 31.01.2012 № 01/760-12-32 «О приказе Роспотребнадзора от 19.09.2011 № 742» [Электронный ресурс] // Официальный сайт Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Воронежской области. URL: <http://36.rospotrebнадzor.ru/elect/electfcn/8322> (дата обращения: 13.10.2016).

42. Побожьева, Л.В. Роль биопленки в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта и способы ее устранения / Л.В. Побожьева, И.С. Копецкий // Лечебное дело. – 2012. – Т. 2. – С. 9–13.

43. Проект федеральной государственной программы первичной профилактики стоматологических заболеваний среди населения России от 22.03.2011 [Электронный ресурс] // Официальный сайт Стоматологической Ассоциации России. URL: <http://www.e-stomatology.ru> (дата обращения: 13.10.2016).

44. Разживин, Р.В. Определение веществ–маркеров при исследовании комплексных препаратов из лекарственного растительного сырья сырья: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Разживин Роман Вячеславович. – Москва, 2008. – 24 с.

45. Руководство ISO/IEC GUIDE 2:2004(E/F/R). Стандартизация и смежные виды деятельности. Общий словарь [Электронный ресурс] // Официальный сайт Международной организации по стандартизации. URL: http://www.iso.org/iso/iso_iec_guide_2_2004.pdf (дата обращения: 13.10.2016).

46. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том II / Под ред. А.Н. Миронова. – М. : Гриф и К, 2013. – 280 с.

47. Рынок зубной пасты и средств гигиены полости рта РФ 2006-2010 гг. Прогноз до 2014 г. – 2011. – 124с.

48. Сженова, Т.М. Анализ перспектив использования и нормирования эфирных масел в качестве антибактериальных компонентов зубных паст при заболеваниях пародонта / Т.М. Сженова, О.В. Нестерова, О.И. Адмакин, А.А. Матюшин, А.А. Филиппова // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – Т. 10 – № 5. – С. 43–53.

49. Сженова, Т.М. Анализ современных требований к контролю качества профилактических зубных паст на основе эфирных масел / Т.М. Сженова, О.В. Нестерова, А.А.

Филиппова // Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации Сб. материалов республиканской науч.-практ. конф. (с международным участием. Ташкент. – 2015. – С. 110-112.

50. Соловьева, А.М. Зубные пасты с местными антисептиками и их роль в комплексном лечении основных стоматологических заболеваний / А.М. Соловьева // Институт Стоматологии. – 2011. – Т. 50 – № 1. – С. 40–43.

51. Технический регламент Таможенного союза “О безопасности парфюмерно-косметической продукции” (ТР ТС-009/2011) [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. URL: http://www.gost.ru/wps/portal/pages/directions/techreg?WCM_GLOBAL_CONTEXT=/gost/GOSTRU/directions/TechnicalRegulation (дата обращения: 13.10.2016).

52. Улитовский, С.Б. Средства индивидуальной гигиены полости рта: порошки, пасты, гели зубные / С.Б. Улитовский – СПб.: Человек, 2002. – 296 с.

53. Улитовский, С.Б. Роль ополаскивателей в гигиене полости рта / С.Б. Улитовский // Гигиена полости рта. – 2011. – № 2. – С. 63–64.

54. Усманова, И.Н. Роль условно-патогенной микрофлоры полости рта в развитии воспалительных заболеваний пародонта и слизистой полости рта (обзор литературы) / И.Н. Усманова, М.М. Туйгунов, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова, А.Г. Губайдуллин, А.А. Герасимова, Р.Ф. Хуснаризанова // Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». – 2015. – Т. 15 – № 2. – С. 37–44.

55. Федеральный закон от 12.04.2010 №61-ФЗ (ред. от 29.12.2015) «Об обращении лекарственных средств» [Электронный ресурс] // Официальный интернет-портал правовой информации. URL: <http://pravo.gov.ru> (дата обращения: 13.10.2016).

56. ФС.2.5.0029.15 Мята перечной листья [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. III. – С. 539–548.

57. ФС.2.5.0037.15 Ромашки аптечной цветки [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. III. – С. 612–623.

58. ФС.2.5.0051.15 Шалфея лекарственного листья [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. – 2015. – Т. III. – С. 737–746.

59. Царёв, В.Н. Пространственно-временная модель формирования биоплёнки полости рта: взаимосвязь процессов первичной адгезии и микробной колонизации / В.Н. Царёв, А.Г. Трефилов, Г.Н. Клейменова, А.В. Лёвкин [Электронный ресурс] // Официальный сайт научно-практического электронного журнала Росмедпортал.ком – 2011. – Т. 2. URL: <http://www.rosmedportal.com> (дата обращения: 13.10.2016)

60. Эрнандес, Е.Н. Триклозан: современные представления / Е.Н. Эрнандес // Косметика

и медицина. – 2000. – № 1. – С. 5–16.

61. Abdelrahman, H.F. In vitro antimicrobial effects of crude Miswak extracts on oral pathogens / H.F. Abdelrahman, N. Skaug, G.W. Francis // Saudi Dent. J. – 2002. – Т. 14 – № 1. – P. 26–32.

62. Ahmad, H. *Salvadora persica* L. (Meswak) in dental hygiene / H. Ahmad, K. Rajagopal // Saudi J. Dent. Res. – 2014. – Т. 5 – № 2. – P. 130–134.

63. Al-bayati, F. In vitro antimicrobial activity of *Salvadora persica* L. extracts against some isolated oral pathogens in Iraq / F. Al-bayati, K. Sulaiman, F. A. Al-Bayati, K. D. Sulaiman // Turk J Biol – 2008. – Т. 32. – P. 57–62.

64. Almas, A.K. Miswak (*salvadora persica* chewing stick) and its role in oral health; an update / A.K. Almas, K. Almas // JPDA. – 2013. – Т. 22 – № 4. – P. 255–264.

65. Alves M. Herbal Dentifrices for Children / Emerging Trends in Oral Health Sciences and Dentistry. – 2015. – 840 p.

66. Alviano, W.S. Antimicrobial activity of *Croton cajucara* Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. / W.S. Alviano, R.R. Mendonça-Filho, D.S. Alviano, H.R. Bizzo, T. Souto-Padrón, M.L. Rodrigues, A.M. Bolognese, C.S. Alviano, M.M.G. Souza // Oral Microbiol. Immunol. – 2005. – Т. 20 – № 2. – P. 101–105.

67. Anushri, M. Herbs: A Good Alternatives to Current Treatments for Oral Health Problems / M. Anushri, R. Yashoda, M. P. Puranik // Int. J. Adv. Heal. Sci. – 2015. – Т. 1 – № 12. – P. 26–32.

68. Araujo, M.W.B. Meta-analysis of the effect of an essential oil-containing mouthrinse on gingivitis and plaque. / M.W.B. Araujo, C.A. Charles, R.B. Weinstein, J.A. McGuire, A.M. Parikh-Das, Q. Du, J. Zhang, J.A. Berlin, J.C. Gunsolley // J. Am. Dent. Assoc. – 2015. – Т. 146 – № 8. – P. 610–22.

69. Araújo Marco, C. Chemical composition and allelopathic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham / C. Araújo Marco, E. Teixeira, A. Simplício, C. Oliveira, J. Costa, J. Feitosa // Chil. J. Agric. Res. – 2012. – Т. 72 – № 1. – P. 157–160.

70. Arfa, A. Ben Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. / A. Ben Arfa, S. Combes, L. Preziosi-Belloy, N. Gontard, P. Chalier // Lett. Appl. Microbiol. – 2006. – Т. 43 – № 2. – P. 149–54.

71. Asgarpanah, J. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Coriandrum sativum* L. / J. Asgarpanah // African J. Pharm. Pharmacol. – 2012. – Т. 6 – № 31. – P. 2340–2345.

72. Asgarpanah, J. An overview on phytopharmacology of *Pelargonium graveolens* L / J. Asgarpanah, F. Ramezanloo // Indian J. Tradit. Knowl. – 2015. – Т. 14 – № 4. – P. 558–563.

73. Assis Lage, T.C. de Chemical composition and acaricidal activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (1836) and its constituents nerolidol and limonene on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). / T.C. de Assis Lage, R.M. Montanari,

S.A. Fernandes, C.M. de Oliveira Monteiro, T. de Oliveira Souza Senra, V. Zeringota, R. da Silva Matos, E. Daemon // *Exp. Parasitol.* – 2015. – T. 148. – P. 24–9.

74. Baba, A. Arg-gingipain is responsible for the degradation of cell adhesion molecules of human gingival fibroblasts and their death induced by *Porphyromonas gingivalis*. / A. Baba, N. Abe, T. Kadowaki, H. Nakanishi, M. Ohishi, T. Asao, K. Yamamoto // *Biol. Chem.* – 2001. – T. 382 – № 5. – P. 817–24.

75. Baburao, N. Phytopharmacological importance of *Pelargonium* species / N. Baburao, M. Hameed Hilal, A. Roja Rani // *J. Med. Plants Res.* – 2011. – T. 5 – № 13. – P. 2587–2598.

76. Balagopal, S. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent / S. Balagopal, R. Arjunkumar // *J. Pharm. Sci. Res.* – 2013. – T. 5 – № 12. – P. 270 – 274.

77. Başer, K.H.C. (Kemal H.C. Handbook of essential oils : science, technology, and applications / K. H. C. (Kemal H. C. Başer, G. Buchbauer – Boca Raton: CRC Press, 2009.– 516 p.

78. Bassolé, I.H.N. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties / I. H. N. Bassolé, H. R. Juliani // *Molecules.* – 2012. – T. 17 – № 12. – P.3989–4006.

79. Batista, A.L.A. Clinical efficacy analysis of the mouth rinsing with pomegranate and chamomile plant extracts in the gingival bleeding reduction. / A.L.A. Batista, R.D.A.U. Lins, R. de Souza Coelho, D. do Nascimento Barbosa, N. Moura Belém, F. J. Alves Celestino // *Complement. Ther. Clin. Pract.* – 2014. – T. 20 – № 1. – P. 93–8.

80. Batwa, M. The effectiveness of chewing stick miswak on plaque removal / M. Batwa, S. Board in Periodontology Jan Bergström, S. Batwa, B. F. Meshari Al-Otaibi // *Saudi Dent. J.* – 2006. – T. 18 – № 3. – P. 125–133.

81. Benly, P. Comparison of the Bacterial Level by Pre Brushing and Post Brushing using Herbal and Fluoridated Toothpaste / P. Benly // *J. Pharm. Sci. Res.* – 2015. – T. 7 – № 6. – P. 339–340.

82. Bernardes, W.A. Antibacterial activity of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens. / W.A. Bernardes, R. Lucarini, M.G. Tozatti, L.G.B. Flauzino, M.G.M. Souza, I.C.C. Turatti, M.L. Andrade e Silva, C.H.G. Martins, A.A. da Silva Filho, W.R. Cunha // *Zeitschrift für Naturforschung. C, J. Biosci.* – 2010. – T. 65 – № 9–10. – P. 588–93.

83. Bertolucci, S.K. V Seasonal variation on the contents of coumarin and kaurane-type diterpenes in *Mikania laevigata* and *M. glomerata* leaves under different shade levels. / S.K.V Bertolucci, A.B.D. Pereira, J.E.B.P. Pinto, A.B. Oliveira, F.C. Braga // *Chem. Biodivers.* – 2013. – T. 10 – № 2. – P. 288–295.

84. Bhat, S.S. Neem – A Green Treasure / S. S. Bhat // *Electron. J. Biol.* – 2008. – T. 4 – № 3. – P. 102–111.

85. Bigos, M. Antimicrobial activity of geranium oil against clinical strains of *Staphylococcus aureus*. / M. Bigos, M. Wasiela, D. Kalemba, M. Sienkiewicz // *Molecules* – 2012. – T. 17 – № 9. – P.

10276–91.

86. BIS IS 6356-2001. Toothpaste – Specification. – New Delhi, Bureau of Indian Standards, 2001. – 20 p.

87. Biswas, K. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*) / K. Biswas, I. Chattopadhyay, R.K. Banerjee, U. Bandyopadhyay // *Curr. Sci.* – 2002. – T. 82 – № 2. – P. 1336–1345.

88. Bone, K. Phytotherapy for Periodontal Disease and Improved Oral Hygiene / K. Bone – 2005. – T. 263. – P. 38.

89. Botelho, M.A. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. / M.A. Botelho, N.A.P. Nogueira, G.M. Bastos, S.G.C. Fonseca, T.L.G. Lemos, F.J.A. Matos, D. Montenegro, J. Heukelbach, V. S. Rao, G.A.C. Brito // *Brazilian J. Med. Biol. Res.* – 2007. – T. 40 – № 3. – P. 349–56.

90. Bozin, B. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. / B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, E. Jovin // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – T. 55 – № 19. – P. 7879–85.

91. British Pharmacopoeia [Электронный ресурс]. – 2014. – 1 электрон.опт.диск (CD-ROM).

92. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review / S. Burt // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – T. 94 – № 3. – P. 223–253.

93. Cássia da Silveira e Sá R. de A Review on Anti-Inflammatory Activity of Phenylpropanoids Found in Essential Oils / R. de Cássia da Silveira e Sá, L. Andrade, R. dos Reis Barreto de Oliveira, D. de Sousa // *Molecules.* – 2014. – T. 19 – № 2. – P. 1459–1480.

94. Cecchini, C. Antimicrobial efficacy of *Achillea ligustica* All. (Asteraceae) essential oils against reference and isolated oral microorganisms. / C. Cecchini, S. Silvi, A. Cresci, A. Piciotti, G. Caprioli, F. Papa, G. Sagratini, S. Vittori, F. Maggi // *Chem. Biodivers.* – 2012. – T. 9 – № 1. – P. 12–24.

95. Cha J.-D. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cryptomeria japonica*. / J.-D. Cha, M.-R. Jeong, S.-I. Jeong, S.-E. Moon, B.-S. Kil, S.-I. Yun, K.-Y. Lee, Y.-H. Song // *Phytother. Res.* – 2007. – T. 21 – № 3. – P. 295–9.

96. Clove Oil Clove Oil / Clove Oil // *Eur. pharmacopoeia 8.0* – 2014. – 1216c.

97. Cohan R.P. Herbal supplements: considerations in dental practice. / R. P. Cohan, P. L. Jacobsen // *J. Calif. Dent. Assoc.* – 2000. – T. 28 – № 8 – P. 600–10.

98. Council directive 76/768/EEC of 27 July 1976 on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products // *Off. J. Eur. Union* – 1976. – T. L – 262 – P. 169.

99. Cox, S.D. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil / S.D. Cox, C.M. Mann, J.L. Markham, J.E. Gustafson, J.R. Warmington, S.G. Wyllie // *Molecules.* – 2001. – T. 6 – № 2. – P.

87–91.

100. Cristani, M. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity / M. Cristani, M.D'Arrigo, G. Mandalari, F. Castelli, M.G. Sarpietro, D. Micieli, V. Venuti, G. Bisignano, A. Saija, D. Trombetta // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – T. 55 – № 15. – P. 6300–8.

101. Directive 2001/83/EC of the European parliament and of the council of 6 November 2001 on the community code relating to medicinal products for human use // *Off. J. Eur. Union* – 2004. – T. L – 311. – P. 67 – 128.

102. Dorman, H.J. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils / H. J. Dorman, S. G. Deans // *J. Appl. Microbiol.* – 2000. – T. 88 – № 2. – P. 308–16.

103. Džamić, A.M. Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil / A. M. Džamić, M. D. Soković, M. S. Ristić, S. M. Grujić, K. S. Mileski, P. D. Marin // *J. Appl. Pharm. Sci.* – 2014. – T. 4 – № 3. – P. 1–5.

104. El-Hawary, S. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Azadirachta indica* A. Juss. / S. El-Hawary, S. S. El-Hawary, M. E. El-Tantawy, M. A. Rabeh, W. K. Badr // *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* – 2013. – T. 6 – № 4. – P. 33–42.

105. European pharmacopoeia 8.0 [Электронный ресурс]. – 2014. – 1 электрон.опт.диск (CD-ROM).

106. Filoche, S.K. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate / S. K. Filoche, K. Soma, C. H. Sissons // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2005. – T. 20 – № 4. – P. 221–5.

107. Freires I. de A. *Coriandrum sativum* L. (Coriander) Essential Oil: Antifungal Activity and Mode of Action on *Candida* spp., and Molecular Targets Affected in Human Whole-Genome Expression / I. de A. Freires, R. M. Murata, V. F. Furletti, D. Turkozu // *PLoS One.* – 2014. – T. 9 – № 6. – P. 1-13.

108. Freires, I. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review / I. Freires, C. Denny, B. Benso, S. de Alencar, P. Rosalen // *Molecules.* – 2015. – T. 20 – № 4. – P. 7329–7358.

109. Galvão L.C. de C. Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects / L. C. de C. Galvão, V. F. Furletti, S. M. F. Bersan, M. G. da Cunha, A. L. T. G. Ruiz, J. E. de Carvalho, A. Sartoratto, V. L. G. Rehder, G. M. Figueira, M. C. Teixeira Duarte, M. Ikegaki, S. M. de Alencar, P. L. Rosalen // *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* – 2012. – T. 2012. – P. 1-12.

110. George, P. Emerging concepts in oral chemical plaque control – an overview / P. George, M. M. Dayakar, D. Vijayalakshmi, P. Shiv // *Int. J. Dent. Clin.* – 2012. – T. 4 – № 2. – P. 49–51.

111. Gera, I. The bacterial biofilm and the possibilities of chemical plaque control. Literature

review / I. Gera // *Fogorv. Sz.* – 2008. – Т. 101 – № 3. – P. 91–9.

112. Groppo, F.C. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms / F. C. Groppo, J. C. Ramacciato, R. P. Simões, F. M. Flório, A. Sartoratto // *Int. Dent. J.* – 2002. – Т. 52 – № 6. – P. 433–7.

113. Gutierrez, J. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients / J. Gutierrez, C. Barry-Ryan, P. Bourke // *Int. J. Food Microbiol.* – 2008. – Т. 124 – № 1. – P. 91–7.

114. Haffajee, A.D. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse / A. D. Haffajee, T. Yaskell, S. S. Socransky // *J. Am. Dent. Assoc.* – 2008. – Т. 139 – № 5. – P. 606–11.

115. Hammer, K.A. Susceptibility of oral bacteria to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in vitro / K. A. Hammer, L. Dry, M. Johnson, E. M. Michalak, C. F. Carson, T. V Riley // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2003. – Т. 18 – № 6. – P. 389–92.

116. Hanus, L.O. Myrrh--Commiphora chemistry / L. O. Hanus, T. Rezanka, V. M. Dembitsky, A. Moussaieff // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacký, Olomouc, Czechoslov.* – 2005. – Т. 149 – № 1. – P. 3–27.

117. Holley, R.A. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials / R. A. Holley, D. Patel // *Food Microbiol.* – 2005. – Т. 22 – № 4. – P. 273–292.

118. Holmstrup, P. Oral infections and systemic diseases / P. Holmstrup, A. H. Poulsen, L. Andersen, T. Skuldbøl, N.-E. Fiehn // *Dent. Clin. North Am.* – 2003. – Т. 47 – № 3. – P. 575–98.

119. Hyldgaard, M. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components / M. Hyldgaard, T. Mygind, R. L. Meyer // *Front. Microbiol.* – 2012. – Т. 3 – P.1-12.

120. ISO 11609:2010 Dentistry. Dentifrices. Requirements test methods and marking [Электронный ресурс] // Официальный сайт Международной организации по стандартизации. URL: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=38010 (дата обращения: 13.10.2016).

121. ISO 16408:2015 Dentistry. Oral care products. Oral rinses [Электронный ресурс] // Официальный сайт Международной организации по стандартизации. URL: http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=65257. (дата обращения: 13.10.2016).

122. Jagan Rao N. Role of Phytotherapy in Gingivitis: A Review / N. Jagan Rao, K. R. Subash, K. Sandeep Ku // *Int. J. Pharmacol.* – 2012. – Т. 8 – № 1. – P. 1–5.

123. Jirovetz L. Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of some essential oils with characteristic floral-rosy scent and of their principal aroma compounds / L. Jirovetz,

G. Eller, G. Buchbauer, E. Schmidt, Z. Denkova, A. S. Stoyanova, R. Nikolova, M. Geissler // Res. Signpost India Recent Res. Devel. Agron. Hortic. – 2006. – Т. 37661 – № 2.– P. 1–12.

124. Kesic LG P.M. Periodontal Disease and Phytotherapy / P. M. Kesic LG, K. DV, M. JM, O. RR, B. MD, S. AA // J. Oral Hyg. Heal. – 2015. – Т. 3 – № 1. – P. 172.

125. Kumaresan, G. Essential oil in the management of periodontal disease / G. Kumaresan, R. Geetha // Int. J. Pharm. Sci. Heal. Care – 2014. – Т. 2 – № 4. – P. 92–98.

126. Lalli, Y. In vitro pharmacological properties and composition of leaf essential oils and extracts of selected indigenous pelargonium (geraniaceae) species[Электронный ресурс] / Y. Lalli, Y. Jacqueline – 2006. – 764p.

127. Lee, S.S. The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: results of an in vitro diffusion method study. / S. S. Lee, W. Zhang, Y. Li // J. Am. Dent. Assoc. – 2004. – Т. 135 – № 8. – P.1133–41.

128. Lemos, T.L.G. Essential Oil of *Croton cajucara* Benth / T. L. G. Lemos, M. I. I. Machado, J. E. S. A. de Menezes, C. R. de Sousa // J. Essent. Oil Res. – 1999. – Т. 11 – № 4. – P. 411–412.

129. Lima, I. de O. Antifungal activity from essential oils on *Candida* species / I. de O. Lima, R. de A. G. Oliveira, E. de O. Lima, N. M. P. Farias, E. L. de Souza // Rev. Bras. Farmacogn. – 2006. – Т. 16 – № 2. – P.197–201.

130. LISTERINE®. Сильные зубы здоровые десны [Электронный ресурс] // Официальный сайт List. URL: <https://www.listerine.ru/products> (дата обращения: 13.10.2016).

131. Lucena, RN. Estudo clínico comparativo do efeito anti-inflamatório da *Matricaria recutita* e da clorexidina em pacientes com gengivite crônica / G. R. Lucena RN, Lins RDAU, Ramos INC, Cavalcanti AL // Rev. Bras. Pesqui. em Saúde – 2009. – Т. 11 – № 3. – P. 31–36.

132. Łysakowska, M.E. The Sensitivity of Endodontic *Enterococcus* spp. Strains to Geranium Essential Oil / M. E. Łysakowska, M. Sienkiewicz, K. Banaszek, J. Sokołowski // Molecules. – 2015. – Т. 20 – № 12. – P. 22881–9.

133. Mackenzie, K. Those Amazing Tea Tree Oils A Medicine Kit Beauty Salon & Cleaning Cupboard In One Small Bottle / K. Mackenzie. – Andover: Karedon Publishing Co, 2006.– 192p.

134. Mandel, I.D. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. / I. D. Mandel // J. Clin. Periodontol. – 1988. – Т. 15 – № 8. – P.488–98.

135. Matan, N. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. / N. Matan, H. Rimkeeree, A. J. Mawson, P. Chompreeda, V. Haruthaithanasan, M. Parker // Int. J. Food Microbiol. – 2006. – Т. 107 – № 2. – P.180–5.

136. Mhaske, M. Chemical agents in control of dental plaque in dentistry: An overview of current knowledge and future challenges / M. Mhaske, B. N. Samad, R. Jawade, A. Bhansali // Adv. Appl. Sci. Res. – 2012. – Т. 3 – № 1. – P. 268–272.

137. Moiteiro, C. Essential oil characterization of two Azorean *Cryptomeria japonica* populations and their biological evaluations. / C. Moiteiro, T. Esteves, L. Ramalho, R. Rojas, S. Alvarez, S. Zacchino, H. Bragança // *Nat. Prod. Commun.* – 2013. – T. 8 – № 12. – P. 1785–90.
138. Myrrh [Электронный ресурс] // *Eur. pharmacopoeia 8.0* – 2014. – P. 1326–1327.
139. Myrrh tincture [Электронный ресурс] // *Eur. pharmacopoeia 8.0* – 2014. – P. 1327.
140. Nagata, H. Inhibitory effects of macrocarpals on the biological activity of *Porphyromonas gingivalis* and other periodontopathic bacteria. / H. Nagata, Y. Inagaki, Y. Yamamoto, K. Maeda, K. Kataoka, K. Osawa, S. Shizukuishi // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2006. – T. 21 – № 3. – P.159–63.
141. Nazzaro, F. Effect of essential oils on pathogenic bacteria / F. Nazzaro, F. Fratianni, L. De Martino, R. Coppola, V. De Feo // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2013. – T. 6 – № 12. – P. 1451–74.
142. Nelita, G. ccedil alves F. de B. Antimicrobial activity and medicinal biomass of *Siparuna guianensis* in Brazilian Cerrado forest, a global hotspot / G. ccedil alves F. de B. Nelita, A. B. P. Mir eacute ia, F. Vany, Q. P. Karine, F. C. J. uacute nior Alo iacute sio, A. Artur // *J. Med. Plants Res.* – 2015. – T. 9 – № 37. – P. 968–980.
143. Nicoletti, M. Chapter 18. Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss) as Source of Bioinsectides. *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management* / M. Nicoletti. – 2012. – 709p.
144. Nimba (Root bark) // *Ayurvedic pharmacopoeia india. Part-I.* – V.1. – 2006. – P. 119–121.
145. Nunes, R.S. Obtenção e avaliação clínica de dentifícios à base do extrato hidroalcoólico da *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) sobre o biofilme dentário / R. S. Nunes, A. A. M. Lira, C. M. Lacerda, D. O. B. Silva, J. A. Silva, D. P. Santana // *Rev. Odontol.* – 2006. – T. 35 – № 4. – P. 275–283.
146. Oliveira, F.Q. Espécies vegetais indicadas na odontologia / F. Q. Oliveira, B. Gobira, C. Guimarães, J. Batista, M. Barreto, M. Souza // *Rev. Bras. Farmacogn. Brazilian J. Pharmacogn.* – 2007. – T. 17 – № 3. – P. 466–476.
147. Omar, O.M. Alternative Medicine: Implications on Dentistry / O. M. Omar // *Altern. Integr. Med.* – 2013. – T. 1 – № 1– P. 103.
148. Ozaki, F. Efficacy of a herbal toothpaste on patients with established gingivitis--a randomized controlled trial / F. Ozaki, C. M. Pannuti, A. V. Imbronito, W. Pessotti, L. Saraiva, N. M. de Freitas, G. Ferrari, V. N. Cabral // *Braz. Oral Res.* – 2006. – T. 20 – № 2– P.172–7.
149. Pannuti, C.M. Clinical effect of a herbal dentifrice on the control of plaque and gingivitis: a double-blind study / C. M. Pannuti, J. P. de Mattos, P. N. Ranoya, A. M. de Jesus, R. F. M. Lotufo, G. A. Romito // *Pesqui. odontológica Bras.* – 2003. – T. 17 – № 4. – P. 314–8.
150. Pauli, A. Antimicrobial properties of volatile phenylpropanes / A. Pauli, K.-H. Kubeczka // *Nat. Prod. Commun.* – 2010. – T. 5 – № 9. – P. 1387–94.
151. Peck, M. An in-vitro analysis of the antimicrobial efficacy of herbal toothpastes on selected primary plaque colonizers / M. Peck, C. Africa, L. Stephen, J. Marnewick, A. Majeed // *Int. J. Clin.*

Dent. Sci. – 2011. – Т. 2 – № 3. – P. 28–32.

152. Peck, M.T. The antimicrobial activity of four herbal based toothpastes against specific primary plaque colonizers / M. T. Peck Официальный сайт University of the Western Cape. 2007. URI: <http://hdl.handle.net/11394/2746> (дата обращения: 13.10.2016).

153. Pei R.-S. Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against E. coli with an improved method. / R.-S. Pei, F. Zhou, B.-P. Ji, J. Xu // J. Food Sci. – 2009. – Т. 74 – № 7– M379-83с.

154. Pinheiro M.A. Efeito antimicrobiano de tinturas de produtos naturais sobre bactérias da cárie dentária / M. A. Pinheiro, D. B. A. Brito, L. F. D. Almeida, Y. W. Cavalcanti, W. W. N. Padilha // Rev Bras Promoç Saúde – 2012. – Т. 25 – № 2– 197–201с.

155. Pistorius, A. Efficacy of subgingival irrigation using herbal extracts on gingival inflammation / A. Pistorius, B. Willershausen, E.-M. Steinmeier, M. Kreislert // J. Periodontol. – 2003. – Т. 74 – № 5. – P. 616–22.

156. Prevention is better than treatment // Bull World Heal. Organ – 2015. – Т. 93. – P. 594–595.

157. Quintas, V. In situ antimicrobial activity on oral biofilm: essential oils vs. 0.2 % chlorhexidine / V. Quintas, I. Prada-López, J. C. Prados-Frutos, I. Tomás // Clin. Oral Investig. – 2015. – Т. 19 – № 1. – P. 97–107.

158. Radafshar, G. A study to assess the plaque inhibitory action of herbal-based toothpaste: A double blind controlled clinical trial / G. Radafshar, F. Mahboob, E. Kazemnejad // J. Med. Plants Res. – 2010. – Т. 4 – № 12. – P. 1182–1186.

159. Rattanachaikunsopon, P. Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against *Vibrio cholerae* in food / P. Rattanachaikunsopon, P. Phumkhachorn // J. Biosci. Bioeng. – 2010. – Т. 110 – № 5. – P. 614–9.

160. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European parliament and of the council of 30 November 2009 on cosmetic products use // Off. J. Eur. Union – 2009. – Т. L – 342. – P. 59 – 209.

161. Rossi, A. De Antimicrobial Activity of Toothpastes Containing Natural Extracts, Chlorhexidine or Triclosan / A. De Rossi, D. C. A. Ferreira, R. A. B. da Silva, A. M. de Queiroz, L. A. B. da Silva, P. Nelson-Filho // Braz. Dent. J. – 2014. – Т. 25 – № 3. – P. 186–190.

162. Shadi, E. Chemical Composition of *Ocimum americanum* Essential Oil and Its Biological Effects Against, *Agrotis ipsilon*, (Lepidoptera: Noctuidae) / E. Shadia, A. El-Aziz, E. A. Omer, A. S. Sabra // Res. J. Agric. Biol. Sci. – 2007. – Т. 3 – № 6. – P. 740–747.

163. Shaheen, S.S. Antimicrobial Efficacy of Ten Commercially Available Herbal Dentifrices against Specific Oral Microflora - In Vitro Study / S. S. Shaheen, P. Reddy, Hemalatha, S. Reddy, D. Doshi, S. Kulkarni, M. Kumar // J. Clin. Diagn. Res. – 2015. – Т. 9 – № 4. – P. 42–6.

164. Silva, F.R. Chemical composition of essential oil from the bark of *Croton cajucara* Bentham

/ F. R. Silva, A. Wisniewski Junior, V. Cechinel Filho, D. S. Nunes // Acta Sci. Technol. – 2012. – T. 34 – № 3. – P. 325–329.

165. Silva, J.C.T. Purification of the seven tetranortriterpenoids in neem (*Azadirachta indica*) seed by counter-current chromatography sequentially followed by isocratic preparative reversed-phase high-performance liquid chromatography / J. C. T. Silva, G. N. Jham, R. D. L. Oliveira, L. Brown // J. Chromatogr. A – 2007. – T. 1151 – № 1–2. – P. 203–10.

166. Silva Filho, A.A. da Antimicrobial activity of the extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae) / A. A. da Silva Filho, J. P. B. de Sousa, S. Soares, N. A. J. C. Furtado, M. L. Andrade e Silva, W. R. Cunha, L. E. Gregório, N. P. D. Nanayakkara, J. K. Bastos // Zeitschrift für Naturforschung. C, J. Biosci. – 2008. – T. 63 – № 1–2. – P. 40–6.

167. Singh, S. Variation in essential oil composition of *Ocimum americanum* L. from north-western Himalayan region / S. Singh, G. Tewari, C. Pande, C. Singh // J. Essent. Oil Res. – 2013. – T. 25 – № 4. – P. 278–290.

168. Souza Costa, C.A. de Biocompatibility of resin-based dental materials applied as liners in deep cavities prepared in human teeth / C. A. de Souza Costa, H. M. Teixeira, A. B. Lopes do Nascimento, J. Hebling // J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. – 2007. – T. 81 – № 1. – P.175–84.

169. Srinivasa, S. A comparative evaluation of a commercially available herbal and non-herbal dentifrice on dental plaque and gingivitis in children-A residential school-based oral health programme / S. Srinivasa, B. Nandlal, S. K. T // J. Dent. Oral Hyg. – 2011. – T. 3 – № 8. – P. 109–113.

170. Subash, K.R. Study of Hepatoprotective Activity of *Solanum nigrum* and *Cichorium intybus* / K. R. Subash, K. S. Ramesh, B. Vargheese, F. Britto, N. J. Rao, S. Vijaykumar // Int. J. Pharmacol. – 2011. – T. 7 – № 4. – P. 504–509.

171. Taheri, J.B. Herbs in dentistry / J. B. Taheri, S. Azimi, N. Rafieian, H. A. Zanjani // Int. Dent. J. – 2011. – T. 61 – № 6. – P. 287–96.

172. Takahashi, J. The Remarkable Structural Diversity Achieved in ent-Kaurane Diterpenes by Fungal Biotransformations / J. Takahashi, D. Gomes, F. Lyra, G. dos Santos, L. Martins // Molecules. – 2014. – T. 19 – № 2. – P. 1856–1886.

173. Takarada, K. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens / K. Takarada, R. Kimizuka, N. Takahashi, K. Honma, K. Okuda, T. Kato // Oral Microbiol. Immunol. – 2004. – T. 19 – № 1. – P. 61–4.

174. Tatikonda, A. Effects of herbal and non-herbal toothpastes on plaque and gingivitis: A clinical comparative study / A. Tatikonda, S. Debnath, V. S. Chauhan, V. R. Chaurasia, M. Taranath, A. M. Sharma // J. Int. Soc. Prev. Community Dent. – 2014. – T. 4– № Suppl 2. – P.126-9.

175. Teles, R.P. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective

adjuncts to mechanical plaque control? / R. P. Teles, F. R. F. Teles // Braz. Oral Res. – 2009. – T. 23 Suppl 1. – P. 39–48.

176. Thanighaiarassu, R.R. Analysis On Chemical Composition Of Natural And Synthetic Essentials Oils Of *Pelargonium Graveolens* (Geranium) By GC-MS And Their Antimicrobial Activity Against Human Pathogenic Bacteria And Fungi / R. R. Thanighaiarassu, B. Nambikkairaj, J. Varalakshmi, P. Sivamani, C. Kandeepan // Int. J. Recent Sci. Res. – 2014. – T. 5 – № 11. – P. 2058–2063.

177. Thaweboon, S. In vitro antimicrobial activity of *Ocimum americanum* L. essential oil against oral microorganisms / S. Thaweboon, B. Thaweboon // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health – 2009. – T. 40 – № 5. – P. 1025–33.

178. Tuberoso, C.I.G. Chemical Composition and Antioxidant, Antimicrobial, and Antifungal Activities of the Essential Oil of *Achillea ligustica* All / C. I. G. Tuberoso, A. Kowalczyk, V. Coroneo, M. T. Russo, S. Dessì, P. Cabras // J. Agric. Food Chem. – 2005. – T. 53 – № 26. – P. 10148–10153.

179. Turina, A. del V Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning / A. del V Turina, M. V Nolan, J. A. Zygodlo, M. A. Perillo // Biophys. Chem. – 2006. – T. 122 – № 2. – P. 101–13.

180. Ultee, A. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus* / A. Ultee, E. J. Smid // Int. J. Food Microbiol. – 2001. – T. 64 – № 3. – P. 373–8.

181. Verkaik, M.J. Efficacy of natural antimicrobials in toothpaste formulations against oral biofilms in vitro / M. J. Verkaik, H. J. Busscher, D. Jager, A. M. Slomp, F. Abbas, H. C. van der Mei // J. Dent. – 2011. – T. 39 – № 3. – P. 218–24.

182. Verma, R.S. Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Herit. ex Ait.) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand / R. S. Verma, R. K. Verma, A. K. Yadav, A. Chauhan // Indian J. Nat. Prod. Resour. – 2010. – T. 1 – № 3. – P. 367–370.

183. Wright, A.A. Oral and peri-oral signs and symptoms of herbal dentifrices in patients in two oral medicine clinics in Lagos—A preliminary study / A. A. Wright, G. A. Agbelusi, A. F. Dayo, O. J. Olunuga // Open J. Stomatol. – 2012. – T. 2 – № 1. – P. 27–32.

184. Yaheya, M. Botanicals Promoting Oral and Dental Hygiene: A Review / M. Yaheya, M. Ismail, N. M. Assem, M. Zakriya // RJPBCS – 2010. – T. 1 – № 2. – P. 202–206.

185. Zhao, J. Nutraceuticals, nutritional therapy, phytonutrients, and phytotherapy for improvement of human health: a perspective on plant biotechnology application / J. Zhao // Recent Pat. Biotechnol. – 2007. – T. 1 – № 1. – P. 75–97.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Список рисунков

Рисунок 1 – Методический подход к стандартизации СГПР на основе лечебно-профилактических добавок эфирномасличного ЛРС	64
Рисунок 2 – Хроматограмма раствора стандартного образца борнилацетата	68
Рисунок 3 – Хроматограмма настойки листьев шалфея лекарственного на спирте этиловом 95% (1:10) (метод ГХ анализа на ПИД).....	68
Рисунок 4 – Хроматограмма водно-спиртового экстракта листьев шалфея, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)	69
Рисунок 5 – Хроматограмма раствора стандартного образца β-фарнезена.....	71
Рисунок 6 – Хроматограмма водно-спиртового экстракта цветков ромашки, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателей «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)	72
Рисунок 7 – Хроматограмма настойки цветков ромашки аптечной на спирте этиловом 95% (1:10) (метод ГХ-МС)	74
Рисунок 8 – Хроматограмма водно-спиртового экстракта цветков ромашки, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ-МС)	74
Рисунок 9 – Хроматограмма раствора стандартного образца гераниола	76
Рисунок 10 – Хроматограмма эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД).....	78
Рисунок 11 – Хроматограмма эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом ГХ-МС.....	79
Рисунок 12 – Масс-спектры на вершине хроматографического пика 440,7с: а) библиотечный масс-спектр гераниола; б) индивидуальный масс-спектр гераниола (без учета фона); в) индивидуальный масс-спектр гераниола (с учетом фона).....	79
Рисунок 13 – Масс-спектры на вершине хроматографического пика 453,3с: а) библиотечный масс-спектр гераниола; б) индивидуальный масс-спектр гераниола (без учета фона); в) индивидуальный масс-спектр гераниола (с учетом фона).....	79
Рисунок 14 – Хроматограмма извлечения из ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	87

Рисунок 15 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)	89
Рисунок 16 – Хроматограмма зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом ГХ-МС	91
Рисунок 17.....	91
Рисунок 18.....	91
Рисунок 19.....	92
Рисунок 20.....	92
Рисунок 21 – Хроматограмма эфирного масла герани, предназначенного для введения в состав зубной пасты и ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» методом ГХ-анализа.....	94
Рисунок 22 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» (метод ГХ анализа на ПИД)	96
Рисунок 23 – Хроматограмма рабочего градуировочного раствора стандартного образца гераниола с внутренним стандартом пердейтеронафталином.....	99
Рисунок 24 – Хроматограмма внутреннего стандарта фенантрена.....	100
Рисунок 25 – Хроматограмма по полному ионному току дихлорметанового извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с внутренним стандартом фенантrenom	100
Рисунок 26 – Увеличенный фрагмент хроматографического пика гераниола из извлечения зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с внутренним стандартом фенантrenom	100
Рисунок 27 – Масс-спектры на вершине хроматографического пика 433,9с: а) библиотечный масс-спектр гераниола; б) индивидуальный масс-спектр гераниола (без учета фона); в) индивидуальный масс-спектр гераниола (с учетом фона).....	101
Рисунок 28 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 1 год хранения	103
Рисунок 29 – Хроматограмма извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения	104
Рисунок 30 – Хроматограмма извлечения из просроченной зубной «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»	106
Рисунок 31.....	109
Рисунок 32 – Хроматограмма растворителя (спирт этиловый 95%).....	111
Рисунок 33 – Хроматограмма раствора стандартного образца гераниола	112

Рисунок 34 – Хроматограмма спиртового раствора эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу	112
Рисунок 35 – Хроматограмма испытуемого раствора без стандартной добавки (извлечения из испытуемого образца зубной пасты)	113
Рисунок 36.....	114
Рисунок 37.....	114
Рисунок 38.....	115
Рисунок 39 – Хроматограмма раствора сравнения №1 (20,77 мг гераниола в 100 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)	117
Рисунок 40 – Хроматограмма раствора сравнения №2 (43,31 мг гераниола в 200 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)	117
Рисунок 41 – Хроматограмма раствора сравнения №3 (65,60 мг гераниола в 300 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)	118
Рисунок 42 – Хроматограмма раствора сравнения №4 (87,70 мг гераниола в 400 мкл эфирного масла герани, стандартизованного по гераниолу)	118
Рисунок 43.....	119
Рисунок 44 – Линейная зависимость содержания гераниола от площадей его пиков на хроматограмме.....	119
Рисунок 45.....	120

Список таблиц

Таблица 1 – Показатели качества статей 475 «Масло эвкалиптовое» (<i>Oleum Eucalypti</i>) и 477 «Масло мяты перечной» (<i>Oleum Menthae piperitae</i>) в ГФ X издания.....	38
Таблица 2 – Хроматографические условия ГХ-анализа.....	49
Таблица 3 – Хроматографические условия ГХ-МС анализа	50
Таблица 4 – Данные хроматографического пика борнилацетата	67
Таблица 5 – Сравнительная таблица химического состава летучей фракции листьев шалфея лекарственного из водно-спиртового экстракта и настойки на спирте 95%(1:10).....	69
Таблица 6 – Данные хроматографического пика фарнезена	71
Таблица 7 – Химический состав водно-спиртового экстракта ромашки по данным ГХ анализа	72
Таблица 8 – Сравнительная таблица химического состава летучей фракции цветков ромашки аптечной по данным ГХ-МС-анализа	74
Таблица 9 – Данные хроматографического пика гераниола.....	76
Таблица 10 – Химический состав эфирного масла герани по данным ГХ анализа.....	77
Таблица 11 – Химический состав эфирного масла герани по данным ГХ-МС анализа	80
Таблица 12 – Результаты стандартизации ЭМ герани по ГФ XIII издания	81
Таблица 13 – Химический состав извлечения из ополаскивателя для полости рта «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	87
Таблица 14 – Химический состав извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» по данным ГХ анализа	88
Таблица 15 – Химический состав зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» по данным ГХ-МС анализа	89
Таблица 16– Результаты определения площади пика растворов стандартного образца гераниола	93
Таблица 17 – Результаты определения площади пика эфирного масла герани.....	93
Таблица 18 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из ополаскивателя «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	95
Таблица 19 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 1 год хранения	96
Таблица 20 – Результаты ГХ-МС анализа рабочих градуировочных растворов стандартного образца гераниола с внутренним стандартом пердейтеронафталином	98
Таблица 21 – Результаты ГХ-МС анализа рабочих градуировочных растворов стандартного образца гераниола с внутренним стандартом фенантроном	98
Таблица 22 – Результаты ГХ-МС анализа извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» с внутренним стандартом фенантроном.....	99

Таблица 23 – Результаты ГХ-МС анализа извлечения из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения.....	104
Таблица 24 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» 2 год хранения	105
Таблица 25 – Результаты ГХ-МС анализа извлечения из просроченной зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	105
Таблица 26 – Результаты определения площади пика гераниола в извлечении из просроченной зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы».....	106
Таблица 27 – Результаты десяти определений содержания гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы»	114
Таблица 28 – Результаты статистической обработки данных внутренней прецизионности.....	114
Таблица 29 – десяти определений содержания гераниола в извлечении из зубной пасты «SPLAT (СПЛАТ) Medical Herbs / Лечебные травы» в разные дни.....	115
Таблица 30 – Результаты статистической обработки данных внутрилабораторной прецизионности	115
Таблица 31 – Результаты статистической обработки данных правильности.....	116
Таблица 32– Результаты статистической обработки данных линейности	120
Таблица 33 – Критерии приемлемости валидируемой методики.....	121
Таблица 34 - Перспективные эфирномасличные растения с антибактериальной активностью, используемые в стоматологии	147

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 34 - Перспективные эфирномасличные растения с антибактериальной активностью, используемые в стоматологии

Название растения	Семейство	ЛРС	Химический состав (классы противомикробных БАВ)	Частные ФС/ нормы действ. веществ в разделе «Количественное определение»	Фармакологическое действие	Применение в стоматологии
ромашка аптечная <i>Chamomilla recutita (L.) Rauschert</i>	сем. астровых <i>Asteraceae</i>	ромашки аптечной цветки (<i>Chamomilla e recutitae flores</i>)	<u>сесквитерпены</u> (до 50%): фарнезен, α -бисаболол и его оксиды, кадинен; <u>флавоноиды</u> : апигенин, лютеолин, кверцетин; [24, 67, 122]	ФС.2.5.0037.15 (ГФ XIII) <u>ЭМ</u> – не менее 0,3%; суммы <u>флаваноидов</u> в пересчете на <u>рутин</u> – не менее 1,2%; <u>экстрактивных веществ</u> , извлекаемых водой, – не менее 18%;	антибактериальное, противовирусное, противовоспалительное, спазмолитическое, миорелаксирующее	формы применения: капсулы, таблетки, настойки, ополаскиватели (чаще) [131], зубные пасты для взрослых и детей. Спиртовой экстракт из <i>M. recutita</i> обладает антибактериальным и антиадгезивным действием в отношении кариеогенных бактерий <i>S. mutans</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>L. casei</i> [65, 131]. Эффективность ополаскивателя с ромашкой и гранатом, при ВЗП – снижение значения ВОР [67, 79, 124]. Противовоспалительное и противомикробное действие сопоставимо с аналогичным действием раствора хлоргексидина 0,12% [124]
Шалфей лекарственный <i>Salvia officinalis</i> L.	сем. яснотковых <i>Lamiaceae</i>	Шалфея лекарственного листья <i>Salvia officinalis folia</i>	<u>ЭМ</u> (цинеол – до 15%); <u>бицикл.</u> <u>монотерпены</u> (L- α -туйон, D- β -туйон, D- α -пинен, D-борнеол, D-камфора); <u>трицикл.</u> <u>сесквитерпены</u>	ФС.2.5.0051.15 (ГФ XIII) <u>ЭМ</u> – не менее 0,8 %; дубильных веществ в пересчете на танин – не менее 4,5 %; экстрактивных веществ, извлекаемых 50 %	антибактериальное, противогрибковое, противовирусное, антисептическое, вяжущее	ополаскиватель для рта, содержащий 10% спиртовой экстракт из <i>S. officinalis</i> , уменьшает индекс видимого зубного налёта (VPI) у добровольцев в 15.3% и GI в 9.3% по сравнению с хлоргексидином в качестве контроля [65, 67, 124, 155].

			(цедрен), терпеноид (карнозол). <u>флавоноиды</u> , <u>дубильные вещества</u> [24, 146]	спиртом, – не менее 30 %.		
Мята перечная <i>Mentha piperita</i> L.	сем. яснотковых <i>Lamiaceae</i>	Мяты перечной листья <i>Menthae piperitae folia</i>	2,5% ЭМ (<u>моноцикл. терпены</u> : ментол (40-70%), ментон (10-25%), пулегон, ментофуран. флавоноиды	ФС.2.5.0029.15 (ГФ XIII) ЭМ – не менее 1 %; суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин– не менее 0,6 %;	болеутоляющий, противораздражающий (терпены);	таблетки, капсулы из листьев мяты и ополаскиватели уменьшают воспаление десны и воздействия на пародонтопатогенные бактерии [67, 124]. При зубной боли используют пропитанный ЭМ тампон, который помещают в полость зуба.
Эвкалипт прутовидный <i>Eucalyptus viminalis</i> Labill.	сем. миртовых <i>Myrtaceae</i>	листья эвкалипта прутовидного <i>Folia Eucalypti viminalis</i>	3% ЭМ (монотерпены: цинеол-эвкалиптол (до 80%)). <u>флавоноиды</u> , <u>дубильные вещества</u>	ФС 15. (ГФ XI) ЭМ – не менее 1 % [15]	противовоспалительное	
Тмин обыкновенный <i>Carum carvi</i> L.	сем. сельдерейных <i>Apiaceae</i>	плоды тмина <i>Fructus Carvi</i>	от 3-7% ЭМ (карвон (50-60%), D-лимонен (40%), карвакрол) <u>флавоноиды</u> (кверцетин, кемпферол)	ФС 31. (ГФ XI) ЭМ– не менее 2% [15]	Противовоспалительное, противомикробное, антисептическое, антигистаминное	
Гвоздичное дерево <i>Syzygium aromaticum</i> L. или <i>Eugenia</i>	сем. миртовых <i>Myrtaceae</i>	бутоны <i>Flores Caryophylli</i> (Ph.Eur., Indian Ph. 2014)	20% ЭМ (эвгенол (75-85%), ацетилэвгенол (4-15%) и β-кариофиллен (5-14%) [96], также	отсутствует в ГФ РФ В Европейской фармакопее (Ph.Eur.) есть 2 ФС на бутоны и ЭМ. В Индийской фармакопее (Indian	обезболивающее, антисептическое, антибактериальное,	В стоматологии гвоздика главным образом используется в качестве анестетика в решении вопросов гигиены, для снятия зубной боли и для лечения кровоточивости десен при периодонтите [67]. ЭМ S.

<i>caryophyllis</i> C. (Spreng.)			присутствуют α и β -пинен, α -фелландрен, п-цимол, лимонен, линалоол, сесквитерпен α -копаен [65, 67] до 20% дубильных веществ	Ph.) есть 3 ФС на ЭМ из 3-х видов ЛРС. <u>по Ph.Eur.</u> : ЭМ не менее 12%; <u>по Indian Ph.</u> : ЭМ содержит эвгенол не менее 75 % и не более 85 %; эвгенилацетат не менее 8 % и не более 15 %;	противовирусное, противовоспалительно, антиоксидантное	<i>aromaticum</i> используется для ароматизации и в качестве натурального пищевого консерванта за счет проявляемой ею противогрибковой и антибактериальной активности [129, 135]. Испытания, проведенные <i>in vitro</i> , показали, что чистое ЭМ <i>S. Aromaticum</i> , входящее в состав зубной пасты, проявляет антибактериальную активность против <i>S. mutans</i> [65].
		листья <i>Folia Caryophylli</i> (Indian Ph. 2014)	<u>по Indian Ph.</u> : ЭМ содержит эвгенол не менее 80 % и не более 92 %; эвгенилацетат не менее 0,5 % и не более 4 %;			
		стебли <i>Caulis Caryophylli</i> (Indian Ph. 2014)	<u>по Indian Ph.</u> : ЭМ содержит эвгенол не менее 83 % и не более 92 %; эвгенилацетат не менее 0,5 % и не более 4 %;			
Мирра <i>Commiphora molmol</i> Engl.	сем. бурсеровых <i>Burseraceae</i>	камедь-смола <i>Gummi-resina Myrrha</i>	40-67 % камеди, 23-35 % смолы и 2-1 % ЭМ (эвгенол) [67, 116]	отсутствует в ГФ РФ В (Ph.Eur.) и Британской фармакопеех (BP) есть 2 ФС: на саму мирру и спиртовую настойку (<i>Myrrhae tinctura</i>) на основе	противобактериальное, вяжущее, противовоспалительно, болеутоляющее,	Мирра используется при фарингите, тонзиллите, гингивите, стоматите и язве, а также для лечения инфекций ротовой полости в качестве анальгетика в виде местных аппликаций [67]

				90% этанола в соотношении 1:5 [91, 138, 139]. Определяют тимол методом ТСХ.	противораковое	
Ним или Азадирахта индийская <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	сем. мелиевых <i>Meliaceae</i>	листья нима <i>Folia Azadirachtae indicae</i>		<u>по Indian Ph.</u> : не менее 1 % рутина	противовирусное, противогрибковое, антимикробное, антибактериальное, жаропонижающее, противовоспалительное, противоопухолевое, болеутоляющее, противоглистное, противокариозное, антиоксидантное действие	Прутья дерева ним в Индии, Бангладеш и Пакистане используются для чистки зубов. Шестинедельное клиническое испытание установило, что гель из листьев нима достоверно ($p < 0.05$) снижает индекс зубного налёта и количество бактерий в полости рта по сравнению с обычным антибактериальным ополаскивателем для рта. По данным ВОЗ и Программы Организации Объединенных Наций по окружающей среде (ЮНЕП) в 1989 ним был признан одним из самых перспективных деревьев XXI века, благодаря своему большому потенциалу в борьбе с вредителями, защите окружающей среды и медицине. Также на основе большого количества результатов исследований, подтверждающих его лечебные свойства, международное научное сообщество включило ним в десятку лучших растений, требующих подробного изучения и дальнейшего использования для устойчивого развития планеты и здоровья живых существ [143].
		семена нима <i>semen Azadirachtae indicae</i>	ЭМ (стероидоподобные тетраортритерпеноиды (лимоноиды): азадирактин А (АзА), АзБ, нимбин, саланнин [104, 143, 165] их производные: генин, нимбим, нимбидин, нимбидиол, нимбинат натрия)	Эти активные соединения входят в состав ЭМ семян нима в высоких концентрациях вместе с жирными кислотами, а в низких – в состав листьев и коры [27, 84, 87].		
		кора корня, цветки (<i>Flores</i>) и плоды (<i>Fructus</i>).	В коре корня, тетраортритерпеноиды, маргоцин, нимбидиол, нимболицин, азадиридин; в цветках – 15-ацетокси-7-деацетоксидигидроазадирион (нифлон), нонакозан, а в плодах – жирное масло, содержащее дитерпеноиды,	в Индийской фармакопее Аюрведа [144] есть 3 ФС на три вида ЛРС нима: кору корня, цветки и плоды.		

			тритерпеноиды (лимоноиды), нимбим, гедунин, азадирактин, нимбидин, саланнин.			
Чайное дерево (<i>Melaleuca alternifolia</i> (Maiden and Betch) Cheel)	сем. миртовых <i>Myrtaceae</i>	листья и одногодичные побеги <i>Folia / Caulis Melaleuca alternifoliae</i>	ЭМ (<u>монотерпены</u> (до 50%), в частности цинеол (до 15%), и дитерпены (около 40%)) 4 редких компонента: виридифлорен (при наличии 1%), L-терпинеол (следовые количества), β-терпинеол (0,24%) и аллилгексаноат (следовые количества) [99, 133].	В Ph.Eur. и ВР есть ФС на ЭМ чайного дерева, которое получают из нескольких видов производящих растений рода <i>Melaleuca</i> , однако <i>M. alternifolia</i> . ГХ-анализ ЭМ: α-пинен (1%-6%); сабинен (до 3,5%); α-терпинен (5-13%); лимонен (0,5-4%); цинеол: (до 15%); γ-терпинен: (10-28%); p- цимол (0,5-12%); терпинолен (1,5-5%); терпинен-4-ол (минимум 30%); аромандрен (до 7%); α- терпинеол (1,5-8%) [96, 138].	антибактериальное, противовоспалительное и обезболивающее	ЭМ наносят непосредственно на воспаленные десны для мгновенного облегчения зубной боли [171]. Ополаскиватели на его основе уменьшают воспаление, что позволяет использовать их в эндодонтологии и лечении некротической пульпы зуба [114], а также влияют на наддесневой зубной налет. ЭМ <i>M. alternifolia</i> в виде геля продемонстрировало хорошую эффективность в контроле микробной биопленки, при значительном снижении индекса кровоточивости десны [3, 88, 115, 124]. Совместное использование ЭМ чайного дерева с другими ЭМ чеснока, нима, мирры, шалфея, эвкалипта, мальвы, ромашки, мануки, мяты, а также прополисом потенцирует противомикробные свойства каждого из них для получения более эффективных средств. [88, 106, 112, 140, 173,].
Сальвадора Персидская или Арак <i>Salvadora</i>	сем. сальвадорных <i>Salvadoraceae</i>	свежие корни, веточки или сучки дерева [63, 64, 184]	В корнях: β-ситостерол, элементарная γ-моноклинная сера (S-8) и	В Индийской фармакопее Аюрведа [144] имеются частные статьи на три вида	бактерицидное (бензилизо тиоцианат)	Арак – основное производящее растение жевательных палочек, натуральная альтернатива зубной щетке и зубной пасте, которые массируют десна и очищают зубы.

<p><i>Persica</i> Linn.</p>		<p>под названием «Мисвак» (Сивак)</p>	<p>глюкотропаелин (бензилглюкозинолат калия), в листья – β-ситостерол, глюкотропаелин, терпены и флаваноиды, в плодах – β-ситостерол, гликозид стерола (ситостеролин), бензилизотиоцианат, следы алкалоидов (сальвадорин). ЭМ (бензилизотиоцианат). флавоноиды: кемпферол, кверцетин, рутин. дубильные вещества и смолы, сапонины и витамином С [63], фтор</p>	<p>ЛРС арака: корни, листья и плоды, химический состав которых различен.</p>	<p>антисептическое, противовоспалительное, обезболивающее (ЭМ)</p>	<p>Дубильные вещества и смолы дают защиту от кариеса за счет формирования слоя поверх эмали вследствие вяжущего действия на слизистую оболочку. Жевательные палочки нима и арака содержат заметное количество фтора, что предотвращает появление кариеса. Оксид кремния в свою очередь выступает в качестве абразивного материала для уменьшения пятен и ослепительного отбеливания зубов [63, 64]. Разжевывание веточек и корней дерева арак приводит к разделению волокон, тем самым превращая их в кисточку или натуральную зубную щетку [61, 63, 88]. Рекомендации его к применению в 1986 году ВОЗ для гигиены полости рта. В 2003 году по заказу ВОЗ простая палочка Арака намного эффективнее зубной щётки и пастой [61, 80].</p>
<p>Пеларгония ароматная или душистая <i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér. ex Ait.</p>	<p>сем. гераниевых <i>Geraniaceae</i></p>	<p>листья <i>Folia Pelargonii graveolensis</i>, реже траву [126, 176]</p>	<p>1.терпеноиды (монотерпенами, сесквитерпенами); 2.фенольные соединения (фенольные, оксикоричные кислоты, кумарины, флавоны, производные флавонола, флавоноиды,</p>	<p>это растение до сих пор не включено ни в одну фармакопею мира</p>	<p>противобактериальное, противогрибковое, антисептическое, противовоспалительное, антиоксидантное</p>	<p>Применение ЭМ герани в стоматологии связано с сильным антибактериальным эффектом, который проявляется при низких значениях МПК на <i>Streptococcus mutans</i> (1000 мкг/мл), <i>S. aureus</i> (0.72 мг/мл), <i>Bacillus cereus</i> (0.36 мг/мл) и <i>B. Subtilis</i> (0.72 мг/мл), <i>S. sobrinus</i> (МПК 1000 мкг/мл), <i>S. sanguinis</i> (МПК 2000 мкг/мл), <i>S. salivarius</i> (МПК 2000 мкг/мл), <i>L. casei</i> (МПК 1000 мкг/мл). [85, 108].</p>

			<p>танины); 3.индольные алкалоиды (илакарпидин (elaecarpidine) и его 20 – Н изомером). 99,23 % ЭМ герани представлены 32 компонентами, основными являются цитронеллол (21,3- 37,8%) и гераниол (8,3-38,4%), а также 10-эпи-γ-эудесмол (4,7-8.27%), изоментон (5.44- 7,9%), линалоол (3,1- 9,4%), цитронеллил формат (6,3-11,7%), геранил формат (3,1- 5,8%), геранил ацетат (4.52%), γ- кадинен (2.89%), геранил бутират (2.53%), гемакрен D (2.05%), гераниаль (0,9-2,7%), нерол (0,7-1,6%), 2- фенилэтил тиглат (0,4-1,1%), α-пинен (0,5-1,6%), β- бурбонен (0,3-1,0%), β-кариофиллен (0,1- 0,9%), цитронеллил ацетат (0,6-0,9%)</p>		<p>нтное, вязущее</p>	<p>Энтерококки (<i>Enterococcus</i>) способны сохранять свою жизнеспособность после эндодонтических процедур и тем самым приводят к неэффективности эндодонтической терапии. В этих случаях применяют ЭМ герани для лечения корневых каналов от локализованных там бактерий. <i>P. graveolens</i> ингибирует штаммы энтерококков в следующем интервале концентраций 1.8–4.5 мг/мл [132]. Полное уничтожение биопленки из этих микроорганизмов происходит при концентрации 150 мг/мл. Таким образом, несмотря на отсутствие сведений о <i>P. graveolens</i> и его ЭМ в фармакопеях, информация о его противомикробной активности имеет совершенно четкую и ясную количественную оценку в виду конкретных значений МПК.</p>
--	--	--	--	--	----------------------------	--

			Также оно богато промышленной фракцией родиола (линалоол+цитронеллол+гераниол) [75, 103, 123, 126, 182].			
Тысячелистник лигурский <i>Achillea ligustica</i> All.	сем. астровых <i>Asteraceae</i>	трава, соцветия, листья и цветки	Главными БАВ: γ -терпинен, β -пинен, 1,8-цинеол, терпинен-4-ол и сесквитерпен виридофлорол [94]. гермакрен Д, линалоол, сантолиновый спирт (6.7–21.8% (S)-2,5-диметил -3-винил -4-гексен -2-ол), борнеол (3.4–20.8%), сабинол. (2.1–15.5%), транс-сабинил ацетат (0.9–17.6%), α -туйон (0.4–25.8%)	фармакопейное растением и ЛРС во всем мире является тысячелистник обыкновенный (<i>Achillea millefolium</i> L.) и его трава (<i>Herba Achilleae millefolii</i>) ЭМ – не менее 0,1% (ГФ XI); (по Ph.Eur. и ВР – минимум 2мл/кг ЭМ, минимум 0,02% хамазулена) [15, 91, 105].	антибактериальное, противогрибковое и антиоксидантное	Наибольший антибактериальный эффект по отношению <i>S. mutans</i> у травы, собранной как в фазу цветения (МПК – 38 мкг/мл), так и в вегетативный период жизненного цикла растения (МПК и МБК – 39 мкг/мл). Такое ЛРС, как соцветия, листья и цветки, отличилось более высокими значениями МПК, равные 155 мкг/мл, и только у цветков была обнаружена МБК, равная 310 мкг/мл.
Криптомерия японская или дерево суги <i>Cryptomeria japonica</i> D. Don	сем. кипарисовые <i>Cupressaceae</i>	надземную часть растения: листва (<i>frons</i>), кора (<i>cortex</i>), сердцевина древесины, в них содержится ЭМ	элеомол, терпинен-4-ол, сабинен, 10(15)-кадинен-4-ол, α -терпинеол и α -пинен, и в меньшей степени с энт-каур-16-ен (ent-kaur-16-ene), (+)-филокладен (дитерпен), ферругинол	это растение до сих пор не включено ни в одну фармакопею мира	антибактериальное	антибактериальная активность ЭМ выражается в следующих значениях: МПК – 100 мкг/мл, а МБК – 200 мкг/мл [95]

			(монотерпен) [95, 137]			
Кротон <i>Croton cajucara</i> Benth.	сем.	кора и преимущественно листья	ЭМ из листьев кротона, отличается содержанием линалоола (13.5%), γ -муролена (γ -thiogerolene 18.4%) и (Z)-сесквилавандулола ((Z)-sesquilandulol 12.6%) [128], а из коры – циперена (суперена 12.36%), α -гуаена (α -guaiene 11.50%) и эпи- β -санталена (epi- β -Santalene 8.70%) [164].	это растение до сих пор не включено ни в одну фармакопею мира	антибактериальное	Уникальная особенность этого вида эфиромасличного растения заключается, что МБК – 13,8 мкг/мл меньше МПК – 40,1 мкг/мл [66]. ЭМ <i>C. cajucara</i> оказывает выраженную антибактериальную активность по отношению к кариесогенным бактериям (<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> и <i>L. Casei</i>) как в планктонном состоянии, так и в одновидовых биопленках.
Бакхарис <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC	сем. астровых <i>Asteraceae</i>	листья для получения ЭМ	транс-неролидол (22,3%), спатуленол и транс-кариофиллен. Среди других БАВ отмечают гермакрен Д (7,2%), лимонен (6,9%), β -пинен (6,7%) and бициклогермакрен (6,5%) [73, 166].	это растение до сих пор не включено ни в одну фармакопею мира	иммуномодулирующее, противовоспалительное, бактериостатическое, противогрибковое	Он известен как главный источник бразильского зеленого прополиса. Бакхарис обладает противомикробным (бактериостатическим) действием особенно в отношении <i>S. mutans</i> (МПК – 62,5-125 мкг/мл, МБК – 250-500 мкг/мл) [108], <i>Cryptococcus neoformans</i> и <i>Candida krusei</i> [166]. Низкие концентрации (31,25 мкг/мл) биоактивных фракций <i>B. Dracunculifolia</i> и <i>C. Sativum</i> вызывают деструкцию 90% биопленок полости рта, образованных <i>S. mutans</i> .

<p>Кориандр посевной <i>Coriandrum sativum</i> L.</p>	<p>сем. сельдерейных <i>Ariaceae</i></p>	<p>плоды <i>Fructus Coriandri</i> и листья</p>	<p>Количество ЭМ в ЛРС (0,7-1,4%) (D-(+)-линалоол (50-80%)) [24]. 1-деканол, транс-2-децен-1-ол и 2-додецен-1-ол [107, 109]. Листья кориандра не являются фармакопейным ЛРС (флавоноиды и изокумарины): 2-деценная кислота, Е-11- тетрадеценная кислота и каприновая кислота</p>	<p>В Ph.Eur. и ВР есть 2 ФС: на плоды кориандра, для которых нормируется содержание ЭМ (минимум 3 мл/кг), и кориандровое масло [91, 105]. ГХ-анализ ЭМ: α-пинен (3-7%); лимонен (1,5-5,0%); γ-терпинен (1,5-8%); р- цимен (0,5-4%); камфора (3-6%); линалол (65-78%); α-терпинеол (0,1-1,5%); геранилацетат (0,5-4%); гераниол (0,5-3%) [96, 138].</p>	<p>антибактериальное, противовоспалительное, противогрибковое, болеутоляющее, антиоксидантное, противодиабетическое, гепатопротекторное [71].</p>	<p>МПК против <i>S. mutans</i> представлена следующим интервалом 31,2-62,5 мкг/мл, а МБК – 62,5-125 мкг/мл [108]. В исследовании <i>in vitro</i> его противокариесогенное действие против биопленок <i>S. mutans</i> оказалось эффективнее по сравнению с хлоргексидином [90].</p>
<p>Липпия (<i>Lippia sidoides</i> Cham.)</p>	<p>сем. вербеновых <i>Verbenaceae</i></p>	<p>листья</p>	<p>ЭМ (основные компоненты тимол (56.7%) и карвакрол (16.7%) [89]. р-цимен, 1,8-цинеол, γ-терпинен, метиловый эфир карвакрола, β-кариофиллен [69].</p>	<p>это растение до сих пор не включено ни в одну фармакопею мира</p>	<p>противомикробное</p>	<p>Противомикробное действие (бактерицидных свойств тимола) по отношению к <i>S. mutans</i> выражается в следующих значениях: МПК – 62,5-125 мкг/мл, МБК – 125-250 мкг/мл [83]. Эффективность ЭМ липпии в составе СГПР (ополаскивателей и зубных паст) была доказана в результате исследований <i>in vivo</i>, когда было отмечено ингибирование около 12% микроорганизмов, 6% из которых находились на стадии образования биопленки [145]. Также она используется в качестве местного антисептика при в</p>

						лечения ран и порезов кожи и слизистых оболочек. Благодаря противовоспалительному и антиоксидантному действию ее применяют при аллергическом рините, боли в горле, гингивите [65].
Микания (<i>Mikania glomerata</i> Sprengel)	сем. астровых <i>Asteraceae</i> [108]	листья	кумарины, дитерпены каурановой структуры (kaurane diterpenes) – основной представитель энткаур-16-ен-19-овая кислота или кауровая кислота (ent-kaur-16-en-19-oic acid (kaurenoic acid)) [83]		противомикробное, противовоспалительное, трипанозидное, цитотоксическое [172]	Аналогичные значения МПК и МБК липпия по отношению к <i>S. mutans</i> были выявлены еще у двух растений: микании и дикого лимона
Дикий лимон (<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.)	сем. сипаруновых <i>Siparunaceae</i> [108]	листья	терпеноиды (бисаболол и бисаболен [142]), дубильные вещества и флавоноиды		антимикробное	
Розмарин лекарственный <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	сем. яснотковых <i>Lamiaceae</i>	листья <i>Folium Rosmarini</i> ; трава <i>Herba Rosmarini</i>	главными БАВ ЭМ считают камфору, вербенон, α-пинен, β-мирцен, 1,8-цинеол, борнеол и β-кариофиллен [67, 82, 124].	В Ph.Eur. и ВР есть 2 ФС: первая – на ЛРС в виде листьев <i>Folium Rosmarini</i> , а вторая – на розмариновое масло <i>Rosmarini aetheroleum</i> , которое получают из травы в период цветения.	антибактериальное (бактериостатический эффект)	<i>R. officinalis</i> проявляет выраженную антибактериальную активность по отношению к <i>S. sobrinus</i> , что выражается в следующем значении МПК, равном 500 мкг/мл. Однако его действие против <i>S. mutans</i> выражено слабо, о чем свидетельствуют высокие значения МПК, равные или больше 2000 мкг/мл [108]. Значения МБК

				<p>ЭМ – не менее 12 мл/кг) и розмариновой кислоты – не менее 3%. ГХ-анализ ЭМ (по Ph.Eur. и ВР): α-пинен (18-26%), камфен (8-12%), β-пинен (2-6%), β-мирцен (1,5-5,0%), лимонен (2,5-5,0%), цинеол (16-25%), р-цимен (1,0-2,2%), камфора (13-21%), борнилацетат (0,5-2,5%) [91, 105]. Однако главными БАВ ЭМ считают камфору, вербенон, α-пинен, β-мирцен, 1,8-цинеол, борнеол и β-кариофиллен [67, 82, 124].</p>		<p>отсутствуют, так как <i>R. officinalis</i> в большей степени оказывает бактериостатический эффект, препятствуя адгезии <i>S. mutans</i> к поверхности зубов и подавляя рост грамотрицательных бактерий. По этой причине это растение имеет огромные перспективы в качестве ингибитора роста бактерий и синтеза глюкана, что говорит о его возможном применении для контроля кариесогенных патогенов [65]. Результаты исследований показали значительную активность водно-спиртового экстракта розмарина на фермент глюкозилтрансфераза [154], продуцируемого <i>S. mutans</i>, и эффективность спиртового экстракта в подавлении адгезии <i>S. mitis</i>, <i>S. mutans</i> и <i>S. sobrinus</i>. <i>R. Officinalis</i> проявляет противогрибковые, антиоксидантные и противовоспалительные свойства [90], благодаря которым его применяют при хроническом диссеминированном кандидозе [124] и зубной боли [67].</p>
<p>Базилик благородный (<i>Ocimum basilicum</i>), Базилик</p>	<p>сем. яснотковых <i>Lamiaceae</i></p>	<p>листья травы в период цветения для <i>O. basilicum</i> [108] и</p>	<p>Главными БАВ в ЭМ базилика американского являются, в первую очередь, эвгенол (28.46 %), и</p>	<p>это растение до сих пор не включено ни в одну фармакопею мира</p>	<p>ЭМ обладает антибактериальным, противовоспалительным</p>	<p>Оно оказывает выраженную антибактериальную активность против <i>S. mutans</i> и <i>L. casei</i> как в планктонном состоянии, так и в виде биопленки. Исследование, выполненное Thaweboon, показало,</p>

<p>эвгенольн ый (<i>Ocimum gratissimum</i> L.) Базилик американс кий (<i>Ocimum americanu m</i>)</p>		<p>семена для <i>O. americanum</i> [177].</p>	<p>метилхавикол (17.34%.) [162], помимо которых также присутствуют 1,8-цинеол, (E)-γ- бисаболен, β- бисаболен (E)- кариофиллен, линалоол, камфора [167].</p>		<p>ым, антиноциц ептивным (обезболив ающим) и инсектицид ным свойствами .</p>	<p>что 3% ЭМ, полученное из листьев <i>O. basilicum</i>, сравнимо по эффективности с 0,2% хлоргексидином в снижении бактериальной нагрузки, представленной биопленками двух видов микроорганизмов: <i>S. mutans</i> и <i>L. casei</i> [177]. Эти данные свидетельствуют о его потенциальном использовании в качестве антисептика для здоровья полости рта. <i>Ocimum gratissimum</i> также проявляет антибактериальное действие по отношению к <i>S. mutans</i> (МПК 1000 мкг/мл), <i>S. sobrinus</i> (МПК 1000 мкг/мл), <i>S. sanguinis</i> (МПК 2000 мкг/мл), <i>S. salivarius</i> (МПК 2000 мкг/мл), <i>L. casei</i> (МПК 500 мкг/мл) [83].</p>
--	--	---	---	--	---	--

АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ

“УТВЕРЖДАЮ”
 Генеральный директор
 ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА»
 Дёмин Е.В.
 “19” 07 2016 г.



А К Т

запланированного внедрения в менеджмент качества ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА»
 в 2016 году результатов диссертационного исследования
 Сженовой Татьяны Михайловны
 на тему «Современные методы контроля качества зубных паст и ополаскивателей
 лечебно-профилактического назначения»

Мы, нижеподписавшиеся, члены комиссии в составе: директора R&D Елены Колгановой и директора по качеству Светланы Копытиной рассмотрели материалы по ГХ-методики анализа гераниола как основного действующего вещества эфирного масла герани в профилактических зубных пастах для контроля качества и признали практическую ценность разработанной методики. Мы удостоверяем, что полученные диссертантом результаты исследований - методика количественного определения гераниола в профилактических зубных пастах, содержащих эфирное масло герани, - может быть внедрена в деятельность ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА» в качестве методики контроля качества профилактических зубных паст «Лечебные травы», выпускаемых компанией, в 2016 г.

Директор R&D
 ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА»

 Колганова Е.

директор по качеству
 ООО «СПЛАТ-КОСМЕТИКА»

 Копытина С.



“УТВЕРЖДАЮ”

Проректор по учебной работе
 ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
 Минздрава России
 к.ф.н., доцент, Литвинова Т.М.
 2015 г.

А К Т

внедрения в учебный процесс
 ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России
 результатов диссертационного исследования
 Сженовой Татьяны Михайловны
 на тему «Современные методы контроля качества зубных паст и ополаскивателей
 лечебно-профилактического назначения»

Мы, нижеподписавшиеся, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики стоматологических заболеваний Севбитов Андрей Владимирович и к.м.н., доцент, заведующая учебной частью кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний Браго Анжела Станиславовна, удостоверяем факт внедрения результатов научной работы Сженовой Татьяны Михайловны в учебный процесс кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России в рамках темы лекционного курса и практических занятий «Профилактика стоматологических заболеваний. Индивидуальные средства гигиены.» календарно – тематического плана по курсу пропедевтическая стоматология. Запланировано использование результатов научной работы Сженовой Татьяны Михайловны в учебном процессе кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России в рамках дисциплины по выбору «Эстетика в стоматологии». Материалы исследования используются при чтении лекций и проведении семинаров со слушателями стоматологического факультета: клиническими интернами и ординаторами, и студентами 1,3,4,5 курсов.

Заведующий кафедрой
 пропедевтики стоматологических заболеваний,
 д.м.н., профессор

Севбитов А.В.

Заведующая учебной частью кафедры
 пропедевтики стоматологических заболеваний,
 к.м.н., доцент

Браго А.С.

