

УДК 615.45

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2021.54.50.001>

## РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СПРЕЯ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ЯГЕЛЯ

**С.И. Ямщикова**, провизор-аналитик лаборатории хроматографических методов исследований Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва; старший преподаватель кафедры фармакологии и фармации Медицинского института, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» (СВФУ) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Якутск, [ssontoeva@gmail.com](mailto:ssontoeva@gmail.com)

**Н.И. Синицына**, канд. фарм. наук, профконсультант лаборатории промышленной фармацевтической технологии Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва, [nisinitsyna@mail.ru](mailto:nisinitsyna@mail.ru)

**О.Г. Потанина**, доктор фарм. наук, директор Центра научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва, [microly@mail.ru](mailto:microly@mail.ru)

**Р.А. Абрамович**, доктор фарм. наук, директор Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва, [abr-rimta@yandex.ru](mailto:abr-rimta@yandex.ru)

**А.В. Никулин**, канд. хим. наук, заведующий лабораторией физико-химических методов исследований Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва, [r251@yandex.ru](mailto:r251@yandex.ru)

**Н.Н. Бойко**, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва, [boykoniknik@gmail.com](mailto:boykoniknik@gmail.com)

---

В работе представлены результаты подбора экстрагента для получения густого экстракта из слоевищ лишайника рода *Cladonia* (ягеля). Показаны этапы разработки технологии получения спрея для полости рта и горла с антибактериальным действием на основе густого экстракта. Проведена стандартизация разработанного спрея по содержанию усниновой кислоты. Доклинические испытания подтвердили антибактериальную актив-

ность лекарственного средства на основе ягеля и его малотоксичность.

**Ключевые слова:** лишайник, *Cladonia*, усниновая кислота, густой экстракт, спрей, технология получения лекарственных средств

Ягель (лишайник рода *Cladonia*) издавна известен у северных народов своими свойствами. Усниновая кислота, как было установлено

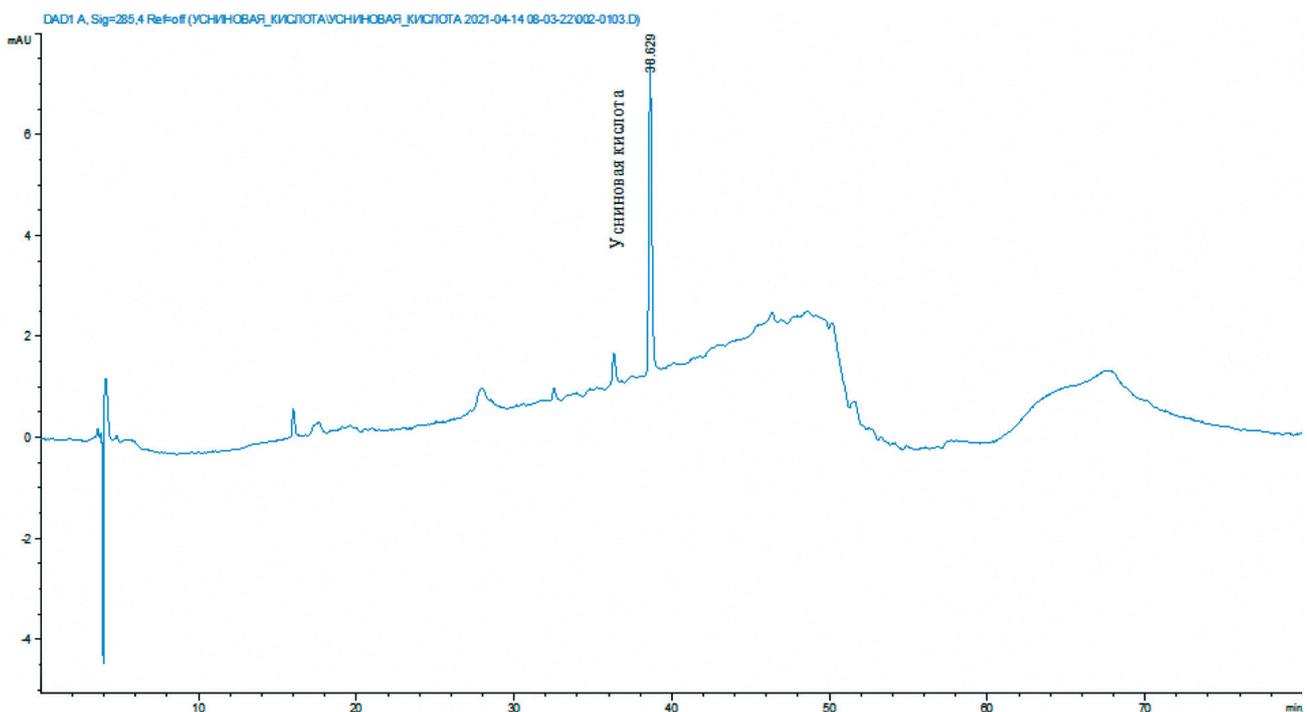
исследователями, обладает противовирусной, антибиотической, анальгетической, противотуберкулезной и инсектицидной активностями [1]. В 1970-е годы в Ботаническом институте В.Л. Комарова АН СССР был разработан и использовался препарат «Бинан», представляющий собой натриевую соль усниновой кислоты, выделенной из лишайников. Препарат обладал антибактериальным действием на грамположительные, некоторые грамотрицательные, кислотоустойчивые бактерии и на определенные грибы. «Бинан» и другие известные препараты с усниновой кислотой являлись растворами спиртовыми или масляными. Ранее была разработана методика хроматографического определения усниновой кислоты и подобраны условия получения густого экстракта ягеля [2]. Растворимость густого экстракта слоевищ *Cladonia* в воде позволяет создавать лекарственные формы на его основе в виде спиртовых растворов. В связи с этим густой экстракт ягеля выбран для создания антибактериального спрея для местного и наружного применения.

**Цель** настоящего исследования – разработать технологию получения спрея анти-

микробного действия из слоевищ лишайника *Cladonia*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Слоевища лишайника рода *Cladonia* были собраны в Республике Саха (Якутия) в августе 2020 года, высушены согласно требованиям Государственной фармакопеи и измельчены до размера частиц, проходящих через сито 0,7 мм. Для определения оптимального экстрагента усниновой кислоты из ягеля к навескам по 1 г (точная навеска) измельченного до 0,7 мм сырья были добавлены 10 мл этанола с разными концентрациями, полученные извлечения отстаивались при комнатной температуре 1 сутки. Затем отделяли осадок ЛРС от извлечения с помощью centrifугирования и фильтровали через фильтровальную бумагу типа «белая лента», 0,5 мл фильтрата помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки метанолом. Хроматографировали согласно разработанной ранее методике [2].



**РИС. 1.** Хроматограмма стандартного раствора усниновой кислоты

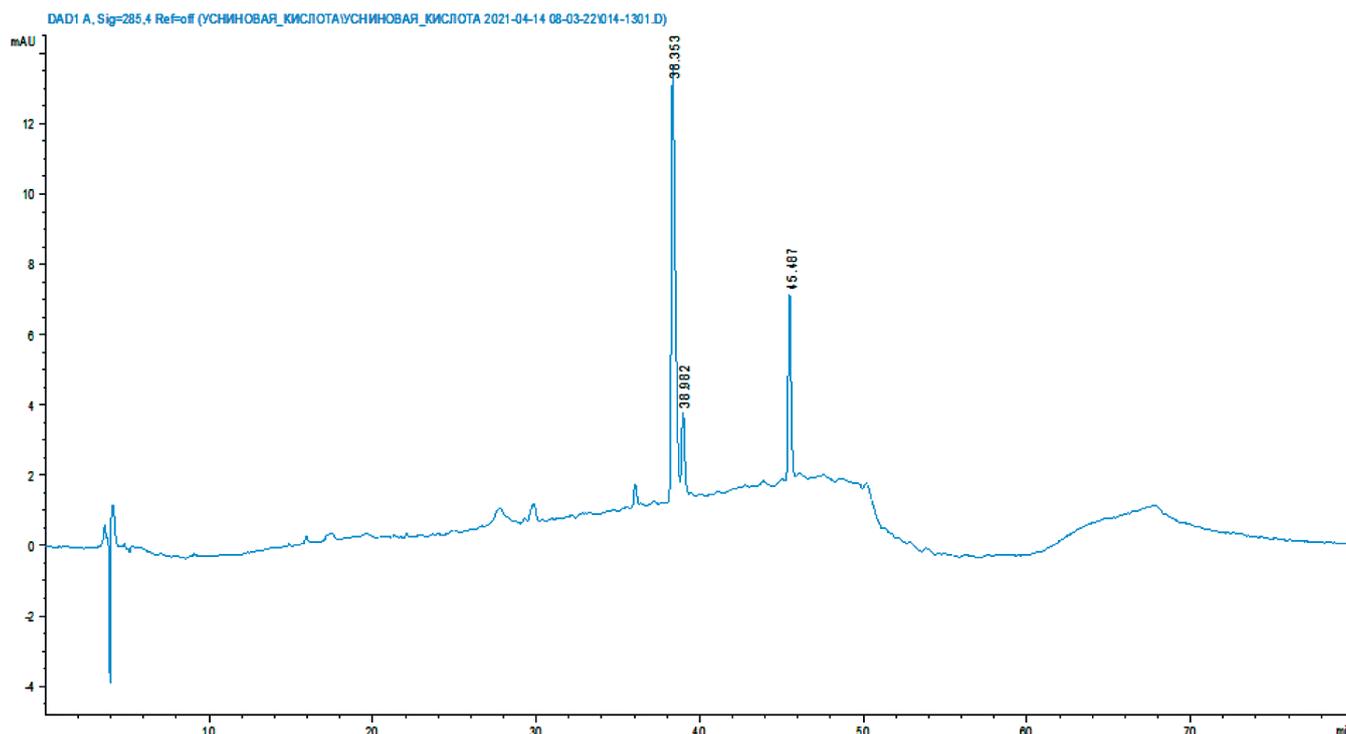


РИС. 2. Хроматограмма извлечения из слоевищ *Cladonia*

На рис. 1 и 2 приведены хроматограммы стандартного раствора усниновой кислоты и извлечения.

Дополнительно была исследована извлекающая способность других органических растворителей: метанол, пропанол, изопропанол, бутанол, изобутанол, этилацетат. При этом способ, степень измельчения, время и кратность экстракции аналогичны соответствующим параметрам при извлечении усниновой кислоты растворами спирта.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований по выбору экстрагентов в табл. 1 представлены данные о количестве усниновой кислоты в полученных извлечениях.

Из полученных данных видно, что лучше всего усниновая кислота извлекается из сырья 70% этиловым спиртом.

Полученные данные при исследовании извлекающей способности различных раство-

Таблица 1

### ЗАВИСИМОСТЬ СТЕПЕНИ ИЗВЛЕЧЕНИЯ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ СЛОЕВИЩ *CLADONIA* ОТ ПРИРОДЫ И КОНЦЕНТРАЦИИ ЭКСТРАГЕНТА

Экстрагент	Концентрация экстрагента, %	Степень извлечения усниновой кислоты, %
Этанол	20	–
	40	–
	60	10,2
	70	25,6
	80	18,2
	96	17,6
1-пропанол	100	2,8
Изопропанол	100	3,0
Бутанол	100	2,6
Изобутанол	100	2,8
Этилацетат	100	2,6
Метанол	100	2,9

рителей были использованы в ходе разработки технологии получения густого экстракта, на основе которого разработан состав спрея.

Анализ составов выпускаемых спреев показал [3], что большинство из них представлены суспензиями, состоящими из густого экстракта и комплексного растворителя. Более целесообразно создание спрея по типу раствора, так как растворенные действующие вещества оказывают быстрый терапевтический эффект.

Выбор дозы действующего вещества в составе спрея основывался на анализе данных предыдущих исследований. В частности, в справочнике «Лекарственные средства» М.Д. Машковского описаны 1% водно-спиртовой или 0,5% масляный раствор (в касторовом масле), а также раствор в глицерине или пихтовом бальзаме с добавлением 2% анестезина [4].

При разработке состава спрея на основе экстракта густого из слоевищ *Cladonia* использовались растворители, солюбилизаторы, поверхностно-активные вещества (ПАВ), корригенты вкуса, ароматизаторы, антимикробные консерванты, представленные в табл. 2.

Для получения раствора, способного образовывать тонкодисперсный аэрозоль после прохождения через капилляр насадки-распылителя, в состав спрея были введены дополнительные растворители и солюбилизаторы. Полученные растворы при этом должны быть прозрачны, стабильны при хранении, не опалесцировать и не давать осадка.

Выбор концентрации растворителей в составе спрея представлен в табл. 3, где приведены модельные смеси с различными композициями вспомогательных веществ.

Как видно из представленных в табл. 2 данных, наилучшие характеристики по внешнему виду, вкусу и факелу распыления имела модельная смесь № 5. Смеси № 1 и № 2 образовывали сильно опалесцирующий раствор, что обусловлено низкими концентрациями спирта, глицерина и солюбилизатора. Опалесценция может способствовать образованию осадка

Таблица 2

### ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА В СОСТАВЕ СПРЕЯ

Наименование компонента	Назначение компонента
Вода очищенная	Растворитель
Глицерин	Растворитель, пластификатор
Изомальт	Корригент вкуса
Метил-4 гидроксibenзоат (Нипагин)	Антимикробный консервант
Полисорбат-60	Поверхностно-активное вещество
ПЭГ-35 гидрогенизированное касторовое масло	Растворитель, солюбилизатор
Этанол 96%	Растворитель, антимикробный консервант
Эфирное масло мяты	Ароматизатор

при хранении раствора, поскольку в нем содержатся мельчайшие нерастворимые частицы, которые способны коагулировать друг с другом. Эти композиции имели горький вкус, так как концентрации корригентов изомальта и эфирного масла мяты были незначительны. Увеличение концентраций растворителей и корригентов улучшало физическое состояние раствора и органолептические свойства композиции.

При распылении вещества на плоскость образуется статический отпечаток факела распыления, чаще всего кольцевой формы. Однако при распылении композиций № 1 и № 2 наблюдалось распыление в виде струи, что, очевидно, обусловлено низкими концентрациями вспомогательных веществ, и вследствие этого вязкость раствора тоже низкая и между каплями раствора существует сильная когезия. При распылении композиций № 4

**СОСТАВЫ МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ СПРЕЯ НА ОСНОВЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА CLADONIA**

Ингредиент, г	№ композиции				
	1	2	3	4	5
Экстракт густой	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Глицерин	5,0	10,0	15,0	20,0	20,0
Изомальт	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Метил-4 гидроксibenзоат (Нипагин)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Полисорбат-60	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0
ПЭГ-35 гидрогенизированное касторовое масло	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0
Этанол 96%	10,0	10,0	15,0	20,0	25,0
Эфирное масло мяты	0,02	0,05	0,1	0,2	0,28
Вода очищенная	До 100	До 100	До 100	До 100	До 100
Внешний вид композиции	Сильная опалесценция	Сильная опалесценция	Умеренная опалесценция	Слабая опалесценция	Прозрачный раствор
Вкус композиции	Горький	Горький	Слабогорький	Сладковатогорький	Сладкий
Факел распыления	струя	струя	Облако-струя	Облако, отпечаток круглой формы	Облако, отпечаток овальной формы, с плотным ядром
pH	6,30	6,35	6,46	6,50	6,50

и № 5 статический отпечаток факела распыления имел три зоны: 1 – зона внутреннего плотного участка, образованная крупными частицами, 2 – полезная зона, состоящая из более мелкого тумана частиц, 3 – площадь внешней зоны разброса частиц. При оптимальном распылении образца № 5 статический отпечаток имеет наименьший диаметр плотного участка, наибольшую площадь полезной зоны и наименьший разброс во внешней зоне.

В опытах *in vitro* мы оценивали степень высвобождения усниновой кислоты из модельных композиций спрея через целлофановую

мембрану в фосфатный буферный раствор pH 6,8 через 5, 10 и 15 мин. Диализ проводили следующим образом: в полой цилиндре дно затягивали целлофановой мембраной, на которую помещали 1 мл спрея. Цилиндр опускали в стеклянный стакан с буфером таким образом, чтобы мембрана касалась поверхности буфера. Результаты представлены на диаграмме (рис. 3).

Как видно из представленной на рис. 3 диаграммы, все модельные смеси высвобождали примерно одинаковое количество усниновой кислоты за определенные промежутки

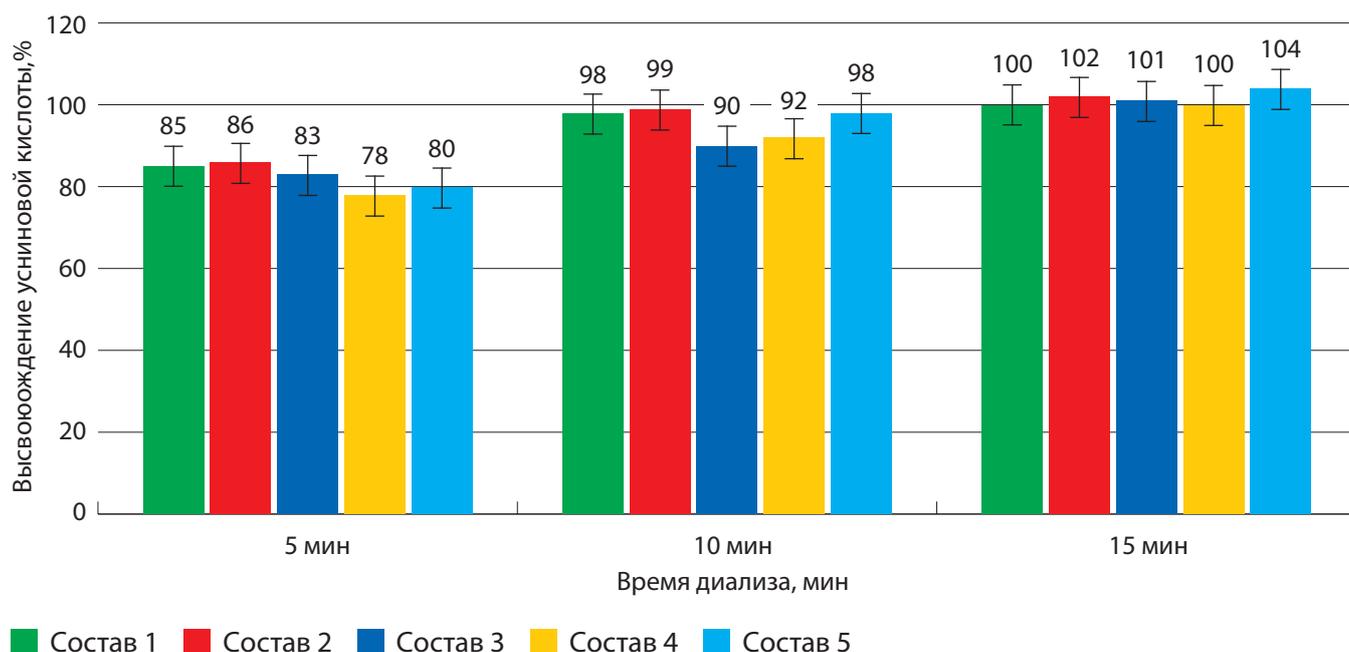


РИС. 3. Высвобождение усниновой кислоты в опытах *in vitro*

времени, что объясняется наличием в их составе сорастворителей и ПАВ. Однако составы № 1, № 2 и № 3 высвобождали почти все активное вещество за 5 мин. диализа, тогда как состав № 5 при хорошей динамике высвобождения высвобождал усниновую кислоту в течение 15 мин., что говорит о пролонгированном действии этого состава спрея.

Таким образом, на основании проведенных исследований разработан состав спрея антимикробного действия для местного и наружного применения на основе экстракта густого из *Cladonia*. Состав приведен в табл. 4. Спрей представляет собой прозрачную жидкость желтого цвета, сладкого освежающего вкуса, с запахом мяты.

Разработанный спрей стандартизирован согласно ГФ XIV [5]. Подобраны условия и разработана методика определения усниновой кислоты методом ВЭЖХ, ее содержание в спрее составило  $1 \pm 0,05\%$ . На основании полученных данных подготовлен проект нормативной документации.

Проведено доклиническое изучение общетоксического действия спрея и антимикробной активности. Показано, что препарат явля-

ется малотоксичным. Экспериментально было установлено, что препарат обладает выраженной ингибирующей активностью по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus*.

Таблица 4

#### СОСТАВ СПРЕЯ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ГУСТОГО ИЗ *CLADONIA*

Наименование ингредиента	Содержание в 100 мл спрея, г
Экстракт густой	1
Глицерин	20
Изомальт	5
Метил-4 гидроксibenзоат (Нипагин)	0,1
Полисорбат-60	3
ПЭГ-35 гидрогенизированное касторовое масло	4
Этанол 70%	10
Эфирное масло мяты перечной	0,28
Вода очищенная	До 100

## ВЫВОДЫ

Разработана технология получения спрея для полости рта и горла антибактериального действия. Полученный спрей стандартизован по содержанию усниновой кислоты. Доклинические испытания разработанного спрея подтвердили антибактериальную активность (по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus*) и малую токсичность.

Результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России (FSRG-2020-0019)

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Yamshchikova S.I., Potanina O.G., Abramovich R.A., Kuzmina A.A., Malogulova I.S. Chemical composition and standardization of *Cladonia rangiferina* (literature review) // *Modern Paradigm of the Scientific Knowledge: Actuality and Prospects: сборник статей по материалам 5-й Международной научно-практической конференции. 5 апреля 2017 г.* – Москва: ООО «Языки народов мира», 2017. – С. 39–40.
2. Ямщикова С.И., Никулин А.В., Дул В.Н., Потанина О.Г., Абрамович Р.А. Разработка методики определения содержания усниновой кислоты в густом экстракте из слоевищ лишайника рода *Cladonia* // II Международная научная конференция «Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства» по направлению «Метаболомика и качество жизни». Сборник тезисов, 6–7 июня 2019 г. – Москва: ФГБНУ ВИЛАР, 2019. – С. 519–526.
3. Хаджиева З.Д., Крахмалев И.С., Сергиенко А.В., Шемонаева М.В. Изучение фармакологической активности спрея на основе густого экстракта корня солодки и листьев эвкалипта // *Фундаментальные исследования.* – 2013. – №4–5. – С. 1169–1171.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 13-е изд., т. 2. – Харьков: Торсинг, 1997. – С. 429–430.
5. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания (ГФ XIV) // Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. – Том II. – С. 1835–1844; 1980–1986.

---



---

## THE DEVELOPMENT OF A SPRAY FORM WITH ANTIMICROBIAL EFFECT FROM A THICK YAGEL EXTRACT

S.I. Yamshchikova<sup>1,2</sup>, N.I. Sinitsyna<sup>1</sup>, O.G. Potanina<sup>1</sup>, R.A. Abramovich<sup>1</sup>, A.V. Nikulin<sup>1</sup>, N.N. Boyko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> People Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Northern-Eastern Federal University named M.K. Ammosov, Yakutsk, Russia

*The results of choosing extractants for better usnic acid extraction from the lichen thallus of the genus *Cladonia* was presented in the article. It was shown the stages of the spray composition development with antibacterial effect obtained from thick yagel extract. The developed spray was standardized on the usnic acid content. Preclinical study have confirmed the antibacterial activity of medicinal products based on reindeer lichen and its low toxicity level.*

**Keywords:** lichen, usnic acid, *Cladonia*, thick extract, spray, drug development