

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

ТРЕТЬЯКОВА
Екатерина Владимировна

**РАЗРАБОТКА СОСТАВОВ, ТЕХНОЛОГИИ И
СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук
по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

Научный руководитель
кандидат фармацевтических наук,
доцент Голованенко А.Л.

Пермь, 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

	СТР.
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ, МЕТОДОВ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	15
1.1. Этиология и патогенез кариеса эмали.....	15
1.2. Химические основы деминерализации и реминерализации зубной эмали.....	18
1.3. Состояние и перспективы применения местных лекарственных препаратов для проведения реминерализующей терапии.....	27
1.4. Создание аппликационных лекарственных форм на основе полимеров, как перспективное направление отечественной научно-практической фармации.....	34
Заключение по главе 1.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1. Объекты исследования и вспомогательные вещества.....	39
2.1.1. Объекты исследования.....	39
2.1.2. Характеристика вспомогательных веществ.....	39
2.2. Методы исследования.....	40
2.2.1. Установление критериев подлинности активных компонентов геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	40
2.2.2. Методы количественного определения активных компонентов геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	43
2.2.3. Физико-химические и технологические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	47
2.2.4. Биофармацевтические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	50

2.2.5. Микробиологические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	52
2.2.6. Фармакологические и токсикологические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	54
2.3. Обработка результатов.....	61
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ГЕЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ.....	62
3.1. Разработка состава геля для лечения кариеса эмали.....	62
3.1.1. Обоснование выбора компонентов геля для лечения кариеса эмали..	62
3.1.2. Биофармацевтические исследования геля для лечения кариеса эмали.....	75
3.2. Разработка технологии геля для лечения кариеса эмали.....	80
3.3. Стандартизация и изучение стабильности в процессе хранения геля для лечения кариеса эмали.....	88
3.3.1. Валидация методик подлинности и количественного определения активных компонентов геля для лечения кариеса эмали.....	88
3.3.2. Испытание на подлинность и количественное определение активных компонентов геля для лечения кариеса эмали	95
3.3.3. Исследование физико-химических параметров геля для лечения кариеса эмали.....	96
3.3.4. Исследование микробиологической чистоты геля для лечения кариеса эмали.....	97
3.3.5. Исследование стабильности геля для лечения кариеса эмали в процессе хранения.....	100
Выводы по главе 3.....	105
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ПЛЕНОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ.....	107
4.1. Разработка состава пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	107

4.1.1. Обоснование выбора компонентов пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	107
4.1.2. Биофармацевтические исследования пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	111
4.2. Разработка технологии пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	119
4.3. Стандартизация и изучение стабильности в процессе хранения пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	124
4.3.1. Валидация методик подлинности и количественного определения активных компонентов пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	124
4.3.2. Испытание на подлинность и количественное определение активных компонентов пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	131
4.3.3. Исследование технологических и физико-химических параметров пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	133
4.3.4. Исследование микробиологической чистоты пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	134
4.3.5. Исследование стабильности пленок лекарственных для лечения кариеса эмали в процессе хранения.....	137
Выводы по главе 4.....	140
ГЛАВА 5. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕЛЯ И ПЛЕНОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ.....	142
5.1. Исследование острой токсичности.....	142
5.2. Исследование антимикробной активности.....	143
5.3. Исследование противовоспалительной активности.....	146
5.4. Исследование реминерализующей активности.....	148
Выводы по главе 5.....	153
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	154

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	156
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	158
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Титульный лист «Методические указания по изготовлению и контролю качества геля для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций».....	180
ПРИЛОЖЕНИЕ 2 Акт внедрения во внутриаптечное изготовление Методических указаний по изготовлению и контролю качества геля для реминерализации эмали.....	181
ПРИЛОЖЕНИЕ 3 Акт апробации методик контроля качества геля для лечения кариеса эмали.....	182
ПРИЛОЖЕНИЕ 4 Титульный лист «Методические указания по изготовлению и контролю качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций».....	183
ПРИЛОЖЕНИЕ 5 Акт внедрения во внутриаптечное изготовление Методических указаний по изготовлению и контролю качества пленок для лечения кариеса эмали	184
ПРИЛОЖЕНИЕ 6 Акт апробации методик контроля качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.....	185
ПРИЛОЖЕНИЕ 7 Титульный лист Опытно-промышленного регламента на производство геля для лечения кариеса эмали.....	186
ПРИЛОЖЕНИЕ 8 Акт апробации в производственных условиях технологии геля для лечения кариеса эмали.....	187
ПРИЛОЖЕНИЕ 9 Акт внедрения в практическую деятельность.....	188
ПРИЛОЖЕНИЕ 10 Акт внедрения в учебный процесс Методических указаний по изготовлению и контролю качества геля для реминерализации эмали в условиях аптечных организаций.....	189
ПРИЛОЖЕНИЕ 11 Акт внедрения в учебный процесс Методических указаний по изготовлению и контролю качества пленок для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций.....	190

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

На сегодняшний день в России и за рубежом отмечена высокая интенсивность и распространенность кариеса зубов, достигающая 99%. Несмотря на большие успехи в профилактике и лечении кариеса зубов эта болезнь представляет серьезную проблему для здравоохранения в большинстве стран мира, что осложняется ростом стоимости восстановительного лечения и новыми доказательствами взаимосвязей осложнения кариеса и ряда системных заболеваний [10, 56, 90, 111,112].

Механизм развития кариеса сопряжен со многими факторами риска, формирующими кариесогенную ситуацию в полости рта, наиболее важным из них является нарушение минерального состава зубов. Отсутствие лечения кариеса приводит к прогрессирующему разрушению зуба, что часто сопровождается сильными болями, а лечение и замена разрушенных зубов осложняется высокой стоимостью оперативно-восстановительного лечения [10, 47, 54, 60].

Поэтому одно из ведущих мест в терапевтической стоматологии занимает проблема профилактики и лечения начального кариеса эмали. Реминерализующая терапия рассматривается в качестве приоритетной стоматологической процедуры и является экономически более эффективной, в сравнении с оперативно-восстановительным лечением [142].

В связи с перегруженностью бюджетных стоматологических учреждений и высокой стоимостью приемов в частных клиниках, рационален перевод профилактического лечения в амбулаторные условия на индивидуальном уровне. Это согласуется с аспектами современной социально-экономической жизни и предъявляет ряд требований к реминерализующим препаратам: удобство применения с минимальными затратами времени, без использования дополнительного оборудования, доступная стоимость препарата, с сохранением высокого фармакологического эффекта. В целях реминерализации наиболее часто используют растворы, пасты, лаки. Однако одновременное присутствие в них основных минерализующих ионов кальция и фосфора приводит к их

химическому взаимодействию и снижению эффективности, что влечет за собой необходимость последовательного применения нескольких препаратов и к увеличению стоимости лечения. К принципиально новым технологиям относятся аппликационные ЛФ на основе полимеров – гели и пленки, содержащие основные минерализующие компоненты: кальций, фосфат и фторид. Благодаря структурированному водному пространству предотвращается взаимодействие кальция и фосфата, что позволяет использовать различные химически несовместимые соединения этих ионов и осуществлять коррекцию их содержания по кальциево-фосфорному коэффициенту для достижения наиболее высокого реминерализующего эффекта. Наличие фторид иона в дополнении к кальцию и фосфату обеспечивает состояние перенасыщенности по гидроксиапатиту. Это дает возможность объединить эффект в одной аппликации, позволяет индивидуализировать лечение и профилактику начального кариеса эмали, а простота, удобство, безопасность и доступность для применения, позволяет охватить большую часть населения и снизить общий уровень распространенности кариеса, поэтому разработка новых более эффективных ЛФ реминерализующего действия является актуальной.

Степень разработанности темы исследования

Существенный вклад в исследования по разработке аппликационных лекарственных форм реминерализующего действия внесли отечественные ученые: Мельниковой Т.Н. в 1996 г разработан состав и технология пленок реминерализующего действия с кальция глюконатом, Меркуловой Е.В. в 2006 г разработан реминерализующий гель с натрия фторидом на гидрофильных основах. По рецептуре и под контролем компании World Dental Systems (Швейцария-Россия) предприятием ООО "Еврокосмед-Ступино" производится реминерализующий гель R.O.C.S. MEDICAL MINERALS с кальция глицерофосфатом. Фармацевтическим научно-производственным предприятием ООО «Салута-М» (Россия) производится выпуск десневой рассасывающейся лечебно-профилактической пластины «ЦМ-2», содержащей в своем составе кальция глицерофосфат и фито-экстракты. Предприятием «Норд-ост» (Россия)

выпускаются стоматологические полимерные самоклеящиеся пленки «Диплен Ф» с натрия фторидом (Патент РФ № 2245710).

Вышеприведенные данные свидетельствуют о незначительной степени разработанности в области создания аппликационных ЛФ реминерализующего действия и включают в себя преимущественно монопрепараты, эффективность которых недостаточна для полноценной реминерализующей терапии. На сегодняшний день не проводилось исследований по созданию ЛФ, одновременно содержащих кальций, фосфат и фторид, обеспечивающих высокий реминерализующий потенциал и содержащих высокие концентрации химически несовместимых ЛС, легко высвобождающихся и взаимодействующих с эмалью зуба.

Цель и задачи исследования

Целью настоящего исследования являлась разработка составов, технологии и стандартизация высокоэффективных и стабильных при хранении лекарственных форм для лечения кариеса эмали – геля и пленок лекарственных.

Для достижения поставленной цели требовалось решение следующих задач:

- на основании технологических, физико-химических, реологических и биофармацевтических исследований обосновать составы и рациональную технологию изготовления геля и ПЛ для лечения кариеса эмали, обеспечивающих оптимальные технологические и потребительские характеристики;

- провести биофармацевтические исследования, изучить кинетические закономерности высвобождения активных компонентов и экспериментально определить время наступления фармакологического эффекта;

- изучить валидационные характеристики методик количественного определения активных компонентов в геле и ПЛ для лечения кариеса эмали;

- провести стандартизацию геля и ПЛ по нормируемым показателям качества: подлинность и количественное определение активных компонентов, рН, микробиологической чистоте и технологическим параметрам ПЛ (средняя масса, толщина, время растворения, потеря в массе при высушивании);

- установить экспериментально обоснованные сроки годности и вид упаковки геля и ПЛ для лечения кариеса эмали;
- изучить степень токсичности разработанных ЛФ и провести лабораторно-клинические исследования их специфической фармакологической активности;
- разработать необходимую нормативную документацию для предложенных ЛФ.

Научная новизна

В результате проведенных научно-экспериментальных исследований разработаны составы, технология, определены показатели качества, предложены методы анализа, валидированы методики определения активных компонентов и проведена комплексная стандартизация геля и ПЛ для лечения кариеса эмали, обладающих оптимальной степенью высвобождения активных компонентов и обеспечивающих повышение реминерализующего потенциала слюны.

На основании проведенных технологических исследований и оценке зависимости физико-химических свойств несовместимых ЛС и вспомогательных компонентов, доказана возможность создания стабильных в процессе хранения ЛФ для лечения кариеса эмали. Благодаря структурированному водному пространству обеспечивается защитный эффект относительно взаимодействия ионов кальция и фосфатов, что позволяет сохранить минерализующие компоненты в свободном активном состоянии и тем самым обеспечить существенное повышение их проникновения в кристаллическую решетку эмали. Соотношение кальция и фосфора 4:1 создает оптимальную среду для формирования устойчивых апатитоподобных структур, а низкая концентрация фторид иона, способствует преципитации апатитов, что обеспечивает высокий реминерализующий потенциал лекарственных форм.

Проведены доклинические исследования различных видов специфической фармакологической активности, доказан стойкий реминерализующий эффект, противовоспалительная и противогрибковая активность геля и ПЛ для лечения кариеса эмали, что позволяет применять ЛФ для профилактики, лечения начального кариеса эмали, а также в качестве дополнительной терапии

некариозных поражений различной этиологии, обусловленных вымыванием минеральным компонентом твердых тканей зуба.

Подана и зарегистрирована заявка № 2017114825 «Средство для профилактики и лечения кариеса эмали зуба» на получение патента в РФ на изобретение.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в обосновании и разработке научно-методологических подходов к созданию аппликационных лекарственных форм для лечения начального кариеса эмали с учетом знаний о химическом составе, фаз реминерализации эмали и основных требований к реминерализующим средствам. При выборе реминерализующих ЛС учтены их полезные и побочные эффекты, сочетаемость со вспомогательными веществами и стоимость.

Практическая значимость работы заключается в создании реминерализующих лекарственных форм, в которых решена основная проблема реализации сочетанной минерализующей профилактики - нестабильность растворов с ионами кальция, фосфатов и фторида.

На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

- методические указания по изготовлению и контролю качества геля для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций (акт внедрения от 06.06.2016 к использованию для внутриаптечного изготовления и контроля в условиях аптеки МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России; акт апробации от 30.05.2017 в условиях лаборатории РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России) (приложение 1, 2, 3);

- методические указания по изготовлению и контролю качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций (акт внедрения от 06.06.2016 к использованию для внутриаптечного изготовления и контроля в условиях аптеки МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России; акт апробации от 02.06.2017 в условиях лаборатории РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России) (приложение 4, 5, 6);

- опытно-промышленный регламент на производство геля для лечения кариеса эмали, утвержденный ОАО «Пермфармация» (акт апробации от 16.04.17) (приложение 7, 8);

- проект ФС «Гель для лечения начального кариеса эмали»;

- результаты работы внедрены в практическую деятельность Стоматологической больницы клинического многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера (акт внедрения от 19.06.2017) (приложение 9).

Кроме того, результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре фармацевтической химии факультета дополнительного профессионального образования и факультета заочного обучения ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (акт внедрения от 02.12.2013, акт внедрения от 08.12.2014) (приложение 10, 11).

Теоретическая и практическая значимость свидетельствуют о целесообразности разработки геля и пленок лекарственных, в качестве расширения ассортимента ЛФ для реминерализующей терапии.

Методология и методы исследования

Методологический подход базируется на выполнении комплекса теоретических, технологических, химических, физико-химических, биофармацевтических и фармакологических исследований, обеспечивающих разработку качественных, эффективных и безопасных ЛС в виде геля и пленок лекарственных.

Дизайн исследования в полной мере отражает структуру и последовательность выполнения всех этапов диссертационной работы.

Положения, выносимые на защиту

- результаты по выбору оптимального состава геля и ПЛ для лечения кариеса эмали;

- биофармацевтические исследования кинетики высвобождения активных компонентов из геля и ПЛ для лечения кариеса эмали;

- исследования по разработке технологии геля и ПЛ для лечения кариеса эмали;
- стандартизация геля и ПЛ для лечения кариеса эмали по показателям подлинность, количественное определение активных компонентов, включая валидацию методик, технологическим, физико-химическим и микробиологическим параметрам;
- определение вида упаковки, условий и сроков хранения геля и ПЛ;
- оценка острой токсичности;
- результаты исследования различных видов специфической фармакологической активности геля и ПЛ: антимикробной, противовоспалительной и реминерализующей;
- итоги внедрения результатов исследований по разработке составов и технологии получения геля и ПЛ в фармацевтическую и стоматологическую практику.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях и конгрессах: научно-практической конференции с международным участием ПГФА (г. Пермь, 2013г); всероссийской научно-практической конференции «Инновации в науке, технике и технологиях» (г. Пермь - 2013 и 2014гг, г. Ижевск - 2014г); научно-практической конференции памяти профессора А.В. Казьянина «Инновации в биофармацевтике» (г. Пермь, 2015 г); IV Международной научно-практической конференции «Современные тенденции развития науки и технологий» (г. Белгород, 2015 г); всероссийской научной конференции студентов и молодых специалистов «Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста» (г. Рязань, 2015 г); международной научно-практической конференции «Научный диспут: актуальные вопросы медицины» (г. Москва, 2015 г); IV международной заочной научно-практической конференции: «Развитие науки в XXI веке» (г. Харьков, 2015 г); научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: достижения,

инновации, перспективы» (г. Пермь, 2015 г); VI международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2015» (г. Санкт-Петербург, 2015 г).

Экспериментальные исследования проводились современными информативными методами, все полученные данные статистически обработаны и достоверны. Заключение и научные положения, представленные в диссертации, достоверны и обоснованно вытекают из полученных автором диссертации результатов.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, во внутриаптечное изготовление аптеки МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России, в производственные условия ОАО «Пермфармация», в РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, в практическую деятельность Стоматологической больницы клинического многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера.

Личный вклад автора

Автор диссертационной работы принимал участие в выборе объектов исследования, постановке целей и задач, определении плана исследований. Самостоятельно провёл научно-информационный и патентный поиск, осуществил сбор и анализ литературных данных, выполнил комплекс лабораторных исследований и статистическую обработку полученных результатов.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России при поддержке программы «УМНИК» Федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.01 - технология получения лекарств. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 3, 4, 6, 8 и 9 паспорта специальности - технология получения лекарств.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 8 в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России и 2 – в журналах, индексируемых реферативной базой SCOPUS.

Структура и объем диссертации

Диссертация содержит следующие основные разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, 3 главы экспериментальных исследований, общие выводы, список использованной литературы и приложения, содержащие документы подтверждающие практическую значимость полученных результатов.

Диссертация изложена на 190 страницах печатного текста, содержит 29 таблиц и 29 рисунков. Список использованной литературы включает 178 литературных источников, в том числе 47 иностранных.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ, МЕТОДОВ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Этиология и патогенез кариеса эмали

Согласно современной общепринятой теории этиологии, кариес — это многофакторный процесс, который инициируется специфической микрофлорой зубного налета, ферментирующей в течение достаточного времени пищевые углеводные компоненты налета с образованием кислот в условиях низкой кариесорезистентности человека [20]. Кариес развивается медленно от начальной деминерализации до полного разрушения зуба. Начальной и единственно обратимой стадией кариозного процесса является кариес в стадии мелового пятна, что связано с сохранением органического матрикса на этой стадии, который служит инициатором минерализации эмали, влияя на величину, рост и форму кристаллов апатита. При переходе кариеса в стадию пигментированного пятна белковая матрица изменяется за счет снижения уровня нерастворимого белка и кариозный процесс становится необратимым. В связи с этим основным способом предотвращения развития кариеса является терапия кариеса эмали в стадии белого пятна, которая заключается в защите эмали от прогрессирующей деминерализации и восстановлении оптимального минерального состава [39, 48, 60, 116, 175].

Запуск механизма деминерализации эмали зубов происходит под влиянием суммы кариесогенных факторов, таких как кариесовосприимчивость зубной поверхности, наличие кариесогенных бактерий, создание ферментируемыми углеводами субстрата и время. Кариесовосприимчивость зубной поверхности определяется свойствами анатомической поверхности зуба, наличие ямок, бороздок, складок, углублений и тонкая эмаль являются зонами, восприимчивыми к кариесу, где создаются благоприятные условия для долговременной фиксации зубного налета [60, 70].

Большая роль отводится качеству структуры эмали, насыщенности эмали зуба кальцием, фосфатами и фторидами. Образовавшиеся в результате влияния

данных ионов апатиты более устойчивы к действию кислот, и функциональному состоянию пульпы, контролирующей движение жидкости по микропространствам в эмали живого зуба. Резистентность к кариесу определяется также гигиеной полости рта, своевременному удалению зубного налёта, и рациону питания [20, 60]. Количество витаминов и микроэлементов влияет на общее состояние организма, особенно слюны. Важное влияние на кариесорезистентность эмали имеют буферные свойства слюны, нейтрализующие кислоты и количество иммуноглобулинов. Малое количество вязкой слюны способствует прикреплению бактерий на поверхность эмали и образованию зубного налёта [39, 90].

К кариесогенным бактериям относятся ацидогенные микроорганизмы, способные ферментировать углеводы до кислот - *Lactobacillus*, *Actinomyces* и маловирулентные стрептококки *Streptococcus* [16, 25, 90]. Современные исследования показывают, что *Candida albicans* также способна к колонизации и растворению гидроксиапатита [156, 159, 163]. Естественная ацидогенная микрофлора дентальной биопленки становится опасной только при условии селективных факторов, возникающих при длительном и частом присутствии в околозубной среде ферментируемых углеводов, которые являются субстратом для ацидогенной и ацидурической микрофлоры [16, 90].

Бактерии, ферментируя углеводы, при брожении образуют кислоты, сдвигая рН в кислую сторону, что приводит к вымыванию минеральных компонентов из зубной эмали. Наиболее активное брожение в налёте вызывают сладкие углеводсодержащие продукты, содержащие моно- и дисахара. Степень кариесогенности увеличивается при частом их употреблении в течении дня и длительном сохранении повышенной концентрации сахаров в налете, при этом *Streptococcus mutans* симбиотически взаимодействуют с *Lactobacillus*, синтезируя внеклеточные полисахариды (декстран и фруктан). Декстран способствует образованию зубных «бляшек», с помощью которых происходит прикрепление микробных клеток к ткани зуба. Фруктан является субстратом для дальнейших процессов кислотообразования даже при отсутствии поступления углеводов из вне [16, 25, 90]. К источникам кислот, которые связаны с развитием дефектов

эмали, относится прием ЛП, содержащих сиропы, анальгетики, витамин С, безалкогольные напитки и фруктовые соки, воздействие кислот окружающей среды в рабочих условиях [71, 76, 138, 155, 160, 161, 172].

Время и частота, с которой зуб подвергается кариегенному воздействию кислот, прямо пропорциональна частоте возникновения кариеса. После каждого приёма пищи, содержащей сахар, микроорганизмы продуцируют кислоты, разрушающие эмаль [20, 90, 125]. Со временем эти кислоты нейтрализуются буферными свойствами слюны и частично деминерализованной эмали. После каждого периода воздействия кислот на эмаль зуба неорганические минеральные составляющие зубной эмали растворяются и остаются в растворённом состоянии 2 часа. При периодическом приеме углеводов рН в течение длительного времени остается низким, буферные свойства слюны не успевают восстановить рН и возникает вероятность необратимого разрушения поверхности эмали. Кислотное разъедание является одной из основных причин утраты эмалевого гидроксиапатита. Это может произойти даже в раннем возрасте, как следствие метаболизма зубного камня или просто благодаря приёму пищи и напитков [16, 76, 132, 140, 141, 151, 152, 157, 173, 174].

Следовательно, химическая суть начального кариеса определяется как дисбаланс постоянно сменяющих друг друга процессов растворения и репреципитации кристаллов фосфата кальция (апатитов эмали) на границе сред – эмали и слюны, определяется степенью насыщенности околозубной среды ионами кальция, фосфатами и водородом (рН), а также химическим составом апатитов эмали. Бактериальная масса, оседая на поверхности эмали, преобразует принимаемые в пищу сахара посредством гликолиза в слабые органические кислоты: молочную, уксусную, пропионовую, муравьиную и т.д. На ограниченном участке поверхности или в складках эмали зуба в зубном налете рН снижается до критического уровня, который поддерживается длительное время или имеет интермиттирующий характер [85]. Микроорганизмы зубного налета прочно оседают на поверхности зуба и в результате ферментативных процессов лизируют защитную органическую оболочку зуба – пелликулу. Таким образом,

кислоты входят в непосредственный контакт с минеральными веществами эмали. Кислоты (ионы H^+) по межкристаллическим пространствам попадают в подповерхностный слой, соприкасаются с апатитами. Скорость диффузии кислот из зубного налета меньше, чем скорость их образования, поэтому они аккумулируются, и избыточное накопление кислот способствует растворению эмали. В результате под зубной бляшкой образуется зона разрыхления эмали, в которой образуются узкие воронкообразные дефекты [60, 90]. Освободившиеся ионы кальция, фосфора и других элементов выходят в ротовую жидкость. Зона деминерализации распространяется параллельно поверхности зуба, так как кислая среда поддерживается за счет кислотообразования на участке поверхности эмали покрытом зубным налетом. При продолжающемся образовании кислоты и в процессе деминерализации микропространства в эмали постепенно увеличиваются. В них проникают органические вещества и микроорганизмы, перенося источник кислотообразования внутрь эмали, при этом деминерализация распространяется как параллельно поверхности зуба, так и внутрь, образуя конусовидный очаг поражения, микропоры в поверхностном слое расширяются, эмаль истончается и проламывается. В дальнейшем процессе деструкции имеет место, как деминерализация, так и лизис органической субстанции микроорганизмами. Кариозный процесс прогрессирует [16, 20, 22, 70, 85, 90].

Таким образом, современная концепция борьбы с кариесом зубов рассматривает кариес как инфекционное заболевание, связанное с питанием и зависящее от ряда местных условий – резистентности. Такое представление о природе кариеса дает возможность диагностировать кариес на доклинических стадиях, начинать лечение неинвазивными мерами, а профилактику выводит на энтропийный и патогенетический уровень [16, 90].

1.2. Химические основы деминерализации и реминерализации зубной эмали

Современная профилактика и лечение начального кариеса эмали направлены на:

- контроль колонизации полости рта, предупреждение или устранение условий для доминирования ацидогенной микрофлоры посредством рационализации питания и улучшения гигиены полости рта, изоляции микрофлоры в недоступных очищению нишах от источников питания, химиотерапевтический контроль кариесогенной микрофлоры;
- поддержание минерального баланса в зоне колебаний pH для сохранения клинической целостности твердых тканей зуба: поддержка защитных свойств ротовой жидкости, внесение минералов в околозубную среду [16, 41, 90].

Процесс деминерализации является естественным и обратимым. Устранить процесс деминерализации позволяет местное консервативное лечение, наиболее эффективным и физиологичным методом лечения начального кариеса признана реминерализующая терапия, патогенетическое воздействие которой направлено на восстановление состава и структуры минерального содержания эмали. Реминерализация эмали возможна благодаря двум свойствам эмали – проницаемости и способности к восстановлению или изменению своего состава в направлении усиления резистентности. В поврежденном подповерхностном участке сокращается количество кальция, фосфатов, магния, карбонатов, уменьшается плотность эмали, повышается ее растворимость, уменьшается коэффициент Ca/P [23, 37]. Этот процесс является обратимым, при соответствующих условиях в полости рта и под воздействием реминерализующих составов кристаллическая решетка способна восстанавливаться. В условиях значительной распространенности кариеса зубов, а также различных форм некариозных поражений, повышенной чувствительности зубов, применение методов реминерализующей терапии становится все более актуальным [47, 54, 111, 135, 157, 158, 166].

Слюна является комплексной биологической жидкостью и выполняет ряд функций: предохраняет слизистую оболочку от высыхания, образования трещин, воздействия раздражителей; нейтрализует отрицательное действие кислот и обеспечивает реминерализацию твердых тканей зуба за счет буферных свойств; бактерицидную, благодаря наличию в слюне лизоцима, лактоферрина,

лактопероксидазы, муцина, цистатина. Противокариозное действие слюны обусловлено ее реминерализующей способностью. Физико-химическое постоянство эмали полностью зависит от состава и химического состояния окружающей ротовой жидкости рта [16, 20, 34, 71, 128, 136, 143].

Слюна питает зуб, подобно как кровь питает тело и является средой, в которой на протяжении всей жизни находятся органы ротовой полости и является естественным фактором поддержания гомеостаза полости рта. Минерализующий потенциал слюны зависит от концентрации ионов и кислотности, стабильность или восстановление кристаллов эмали определяется степенью насыщенности слюны ионами кальция, фосфатов и фторида, следовательно, играет ключевую роль в защите от кариеса [34]. Под влиянием кариесогенных факторов увеличивается кислотность слюны, часть ионов H^+ реагирует с фосфат ионом, превращая его в HPO_4^{2-} , снижая концентрацию свободных PO_4^{3-} ионов, сменяя состояние пересыщенности эмали ионами фосфата на состояние недосыщенности, также в кислой среде апатит вынужден отдавать ионы кальция для связывания H^+ [75, 136, 157].

Помимо качественных характеристик слюны большую роль играет и количественное ее содержание, с уменьшением выделения слюны уменьшается количество минеральных компонентов и, как следствие, резко нарушается минеральный баланс зубов в сторону деминерализации [99].

Главным фактором стабильности апатитов эмали в слюне являются рН и концентрация кальция, фосфата и фтористых соединений. Кальций в слюне находится как в ионном, так и связанном состоянии, в среднем 15% кальция связано с белками, около 30% находится в комплексных связях с фосфатами, цитратами и т.д. и только около 5% кальция находится в ионном состоянии. Ионизированный кальций является более активной частью общего кальция слюны, регулирует растворимость фосфатов кальция в полости рта, обеспечивает кариесовосприимчивость и кариесрезистентность зубов. Таким образом, особенность состава и свойств слюны способствует поддержанию гомеостаза минеральных компонентов в полости рта [16, 71, 145].

pH слюны человека находится в интервале 6,2-7,4. Для процессов естественной минерализации и реминерализации эмали оптимальными являются нейтральные и щелочные значения pH, тогда как в кислой среде при уровне $pH < 5,5$ преобладают процессы деминерализации. Реминерализующая терапия позволяет моделировать буферные свойства, специальными препаратами насыщая зубную эмаль минеральными компонентами [16, 71, 104]. Однако постоянное увлажнение ротовой полости слюной вызывает быстрое вымывание местных ЛП, так препараты для орошений быстро вымываются ротовой жидкостью, в результате лечебная концентрация активного вещества снижается. Перспективным направлением в развитии современной терапии лечения начального кариеса является создание ЛП, обеспечивающих локальное и равномерное высвобождение активных веществ из ЛФ, создавая его необходимую терапевтическую концентрацию ЛС в очаге поражения. Этим требованиям соответствуют гели и трансбуккальные терапевтические системы - ПЛ, в которых действующие вещества иммобилизуют на разнообразных полимерных основах, которые фиксируются в полости рта, они не вызывают нежелательных ощущений во рту (горечи, жжения, сухости) и аллергических реакций. Подходы к разработке готовой ЛФ реализуются при подборе оптимального соотношения активных и вспомогательных компонентов [75, 121].

В связи с тем, что кариозный процесс разворачивается в апатитоподобных структурах эмали, а реминерализующая терапия направлена на восстановление кристаллической решетки апатита большую роль играет вид и соотношение замещаемых элементов. Основным типом кристаллов эмали являются апатиты с общей формулой $(Ca_{10-x}PO_{6-x})_xX_{2x}H_2O$, большую часть апатитов до 75% составляют гидроксиапатиты $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ [16, 23, 90]. Под воздействием органических кислот гидроксиапатит теряет ион кальция и на этом месте образуется свободная вакансия. Следовательно, наличие в решетке кристалла апатита свободных вакантных мест является предпосылкой для его замещения и основой процесса реминерализации. Однако, при отсутствии необходимых ионов, их заполнение возможно «загрязняющими» включениями – карбонатными

группами и рядом других химических элементов, по принципу компенсации заряда. Включения и вакансии значительно изменяют плотность кристалла биологического апатита и его растворимость. Особенно существенное влияние на свойства апатита оказывают карбонаты, магний и фториды. Кальций кристалла апатита может быть заменен барием, магнием, серой, хромом, кадмием, снижая при этом кислотоустойчивость апатита, или цинком и оловом, повышая кислотоустойчивость. Фосфатная группа может быть заменена группой, содержащей карбонат, мышьяк или кремний, что снижает кислотоустойчивость апатита. Гидроксильная группа может быть замещена фторидом с повышением кислотоустойчивости, и ионами хлора, бора, йода со снижением кислотоустойчивости. Оптимальными являются апатиты, в которых большое количество атомов кальция сочетается с двумя ионами фтора: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Соответственно основными ионами, подлежащими к включению в реминерализующие средства, являются ионы кальция, фосфатов и фторидов, которые предотвращают растворение апатитов эмали и создают условия для репреципитации фосфатов кальция даже при заметном снижении pH [23, 39, 90].

Согласно современным подходам реминерализующей терапии, кальций, фтор и фосфат являются основными минерализующими компонентами, увеличивая буферную емкость слюны, проникают вглубь кристаллов и образуют наиболее кислотоустойчивые формы апатита, восстанавливая эмаль. Поэтому в качестве фармакологически активных веществ для введения в реминерализующие препараты подлежат водорастворимые соединения кальция, фтора и фосфатов, что является наиболее обоснованным с точки зрения биологической совместимости и биологической доступности [45, 142]. При выборе активных компонентов также учитываются: способность окрашивать ткани полости рта, неприятный вкус, кислотное растворение реставрационных материалов; сочетаемость с другими компонентами препарата и стоимость.

Кальций и фосфаты рассматриваются как «естественная» основа для пополнения минерального резерва эмали, при насыщении слюны фосфатом и кальцием повышается ее буферная емкость. Активность буферных систем

зависит от способности выделения ионизированного кальция. Нерастворимые соединения кальция и фосфатов, такие как мел, дикальций-, трикальцийфосфат, др., не способны выделять ионы в свободное состояние поэтому не влияют на процессы реминерализации и не подлежат к включению в реминерализующие стоматологические местные препараты [110].

Эффективность практического применения также зависит от оптимального соотношения активных компонентов в минерализующих средствах. Современным требованием реминерализующей терапии в лечении и профилактики кариеса эмали является перенасыщенность фосфатов над кальцием в соотношении 4:1 [16, 18, 19].

Кальций. В средствах местного воздействия чаще всего используют следующие соли кальция: кальция хлорид, кальция глюконат, кальция лактат и кальция глицерофосфат. Наибольшее содержание кальция в мг на 1 кг вещества имеет кальция хлорид (270 мг), кальция глицерофосфат (191 мг), кальция лактат (130 мг) и кальция глюконат (90 мг) [110]. Использование глицерофосфата кальция лишает возможности моделировать соотношение содержания ионов кальция и фосфатов для повышения реминерализующего потенциала ЛФ [16, 18, 19, 90].

Фосфат. Перенасыщенность слюны гидроксиапатитом создается за счет высокой концентрации неорганического фосфора, избыток которого в нейтральной среде препятствует выходу ионов кальция и фосфатов эмали, способствуя сохранению естественного состава твердых тканей зуба. Неорганический фосфор в виде фосфат ионов активно участвует в обмене слюна-эмаль, включаясь в апатит [13, 19, 29, 130, 145].

Чаще всего в стоматологической практике применяют кальция глицерофосфат, кальция фосфат, кальция монофосфат и прочие соли фосфорной кислоты (гидро- и дегидрофосфаты калия, натрия) [110]. Однако, в соединениях, одновременно содержащих кальций и фосфат, отсутствует возможность корректировки содержания каждого иона в отдельности, что не позволяет достичь высокого реминерализующего эффекта.

Фтор. Фториды добавляют в средства оральной гигиены чаще других химиопрепаратов, они выступают в роли активатора и регулятора проницаемости эмали зуба, что связано с выраженным кариеспрофилактическим эффектом и потенциальным влиянием фторидов на кариесогенную активность зубного налета [84, 87, 112].

Фториды воздействуют на биохимические процессы кариесогенных бактерий. При снижении рН внеклеточной среды фторид проникает в микробную клетку и снижает активность ее жизненно важных ферментов, таким образом, противомикробные эффекты фторида нарастают с увеличением концентрации и снижением рН околозубной среды. Фторид снижает уровень синтеза клеточной АТФ, что приводит к блокаде транспорта сахара в микробную клетку, вызывая голодание микробной клетки. Нарушает АТФ-зависимый транспорт ионов водорода из бактериальной клетки, снижая активность ее клеточных ферментов в кислой среде, нарушает транспорт в клетку аминокислот. Фторид контролирует синтез липотейхоевой кислоты клетками *Streptococcus mutans*, снижая активность микробного синтеза внутриклеточных углеводов и внеклеточных полисахаридов глюкана и фруктана, уменьшает выживаемость микроорганизмов, нарушает механизмы адгезии и прироста зубной бляшки, снижает синтез пептидогликанов, что приводит к цитолизу микробной клетки, снижает темпы прироста биомассы налета. Под действием фторидов *Streptococcus Mutans* утрачивает возможность использовать глюкозу, блокируется гликолиз, что снижает продукцию кислоты и удерживает рН на относительно высоком уровне - таким образом фторид даже в присутствии углеводов сдерживает чрезмерный рост *Streptococcus mutans*, предупреждает сдвиг рН в кислую сторону и как следствие снижает уровень риска возникновения кариеса. Фторид ион ингибирует активность фосфатазы микробной клетки, что провоцирует от нее отток фосфата, который может быть использован для реминерализации апатитов эмали [144, 146, 177]. Фторид изменяет электрический потенциал поверхности эмали, препятствуя осаждению на ней микробных частиц и повышает функциональную активность слюнных желез за счет сосудорасширяющего действия. Использование

фторидов приводит к образованию на поверхности эмали защитного слоя фторида кальция, стимулирует образование в твердых тканях зубов фторапатита, который является тверже и более кислотостойким в сравнении с другими апатитами. Вследствие этого на поверхности эмали образуется фторапатитная пленка, которая препятствует проникновению микроорганизмов и их кислот [45, 72, 73, 76, 87, 127, 157].

По результатам фундаментальных исследований в области стоматологии установлено, что после местного использования фтора плотность отрицательного заряда на поверхности кристалла апатита увеличивается, тем самым создается более высокая катионная специфичность по отношению к ионам кальция. В результате воздействия фтора ионный обмен кальция становится более интенсивным, происходит его накопление в поверхностных слоях эмали [45, 46].

Фторид в высоких концентрациях обеспечивает только поверхностную реминерализацию эмали, что способствует развитию скрытого кариеса. Сквозная реминерализация является более предпочтительной и обеспечивается невысокой, но постоянно повышающейся концентрацией фторида в околозубной среде. Количество вводимого в состав стоматологических ЛФ фтора ограничивается также тем, что пациенты непроизвольно заглатывают ЛФ (пасту, гель и т.д.), у детей в возрасте до 3 - 4 лет количество непроизвольно проглоченных ЛФ достигает 30%, что может приводить к развитию флюороза, вызванного заглатыванием фторсодержащих ЛФ. По рекомендации ВОЗ в свободной продаже должны находиться ЛФ с концентрацией ионов фтора в зубных пастах и гелях 0,10 - 0,15% (1500 ppm) для взрослых, если же концентрация фтора в зубной пасте выше, то реализация рекомендуется через аптечную сеть по рецептам [55, 61, 147, 149, 176, 177]. Рекомендации по применению фторидов для детей, разработанные EADP (*European Archives of Pediatric Dentistry, 2009*), учитывают возраст ребенка и степень риска возникновения кариеса [55, 61]. Данные концентрации относятся к содержанию иона фтора, следовательно, концентрация вещества, в составе которого этот ион вводится в пасту, должна быть выше.

Высокая стоимость профилактических стоматологических ЛФ препятствует их широкому использованию, поэтому важным критерием при выборе активных веществ является не только высокая эффективность, но и доступная стоимость вводимых компонентов [61].

С целью профилактики кариеса чаще применяют натрия фторид, натрия монофторфосфат, олова фторид, аминофторид и титана фторид, наибольшей популярностью и эффективностью среди них обладают натрия фторид, натрия монофторфосфат и аминофторид. Особый интерес представляет 8-10% раствор олова фторида, что связано с проявлением бактерицидного и бактериостатического эффекта на микрофлору полости рта [110]. Однако высокая рабочая концентрация снижает уровень безопасного использования ЛФ в амбулаторных условиях.

Многочисленные публикации подтверждают высокую эффективность в профилактике кариеса ЛФ, содержащих аминофторид [52, 61, 103, 120, 129]. Однако, возможно, из-за различий вкусовых качеств и более высокой стоимости ЛФ с аминофторидом, среди населения более популярны ЛФ, содержащие монофторфосфат (продукты Colgate) и натрия фторид (продукты Procter & Gamble), либо сочетание этих фторидов, также обладающих достаточно высокой эффективностью [110].

Исследования, проведенные в США, доказывают, что натрия фторид является более эффективным соединением в профилактике кариеса по сравнению с монофторфосфатом [153, 169, 171]. Натрия фторид является классическим препаратом, применяемым при фторировании зубов, он безвкусный, не окрашивает пелликулу, легко диссоциирует с выделением активного ионизированного фтора, что позволяет хорошо фиксироваться в зубном налете и в слизистой оболочке полости рта. В пастах (гелях, ПЛ) для взрослых рекомендуется вводить 0,22 - 0,33% натрия фторида. Оптимальная весовая концентрация натрия фторида в пастах составляет 0,243% [55, 147, 176, 177].

1.3. Состояние и перспективы применения местных лекарственных препаратов для проведения реминерализующей терапии

Современный ассортимент препаратов для лечения и профилактики развития кариеса представлен большим разнообразием препаратов в различных формах выпуска, с содержанием одного или нескольких реминерализующих компонентов. Механизм действия местных рем-средств заключается в дополнении околозубной среды реминерализующими ионами. Эффективность реминерализующих средств оценивается видом не только действующих веществ, но и видом ЛФ, которая обеспечивает скорость и полноту наступление фармакологического эффекта [100].

До 90-х годов широко применяли профилактические и терапевтические эффекты «классических» монопрепаратов и их комбинаций, преимущественно в форме растворов, путем длительных процедур и курсов. Такие препараты обладают слабыми адгезивными свойствами и кумулятивным действием в месте воздействия, незначительной глубиной проникновения активных компонентов в ткани зуба, а их терапевтический эффект кратковременен. В форме растворов, минеральные компоненты кариесостатических средств вступают в реакцию между собой с образованием нерастворимых соединений, практически не проникающих в эмаль, поэтому рекомендации к применению заключались в назначении этих средств последовательно [17, 63, 87, 131].

Наиболее популярными комбинациями монопрепаратов являются 15-ти минутные аппликации 10% раствором кальция глюконата, 2,5% раствором глицерофосфата кальция или 5% раствором хлорида кальция курсом по 15 сеансов, с повторными курсами 2-3 раза в год. Метод Боровского — Леуса заключается в комбинации растворов: 15 минутные (3 раза по 5 минут) аппликации 10% раствором глюконата кальция с последующей аппликацией 2% раствором фторида натрия в течение 3 минут, профилактический курс предусматривает 10-15 процедур 2 раза в год. При методе Боровского – Волкова используется двухкомпонентный раствор, который состоит из 10% раствора нитрата кальция и 10% раствора кислого фосфата аммония. Подготавливают зубы

и последовательно проводят аппликации каждым из данных растворов по 3-5 минут. Через 5-7 процедур на поверхности эмали и в микропространствах под поверхностным слоем образуется вещество брушит, которое является источником ионов фосфора и кальция. Метод по Виноградовой Т.Ф. заключается в аппликации 2% раствором глюконата кальция 2-4 минуты с последующим полосканием 0,2% раствором натрия фторида или аппликацией фторлаком. Метод по Сунцову В.Г. - аппликация 2% раствором натрия фторида 3-5 минут с последующей аппликацией раствором глюконата кальция [13, 17, 84]. С профилактической целью применяют аппликации 3% раствора Ремодента в течение 1 минуты, 1-2 раза в неделю в течение 10 месяцев в году. Ремодент является высокоочищенной костной мукой, полученной из челюстных костей молодняка крупного рогатого скота методом лиофилизации или вакуумной сушки, содержит кальций, фосфор, магний, калий, натрий, марганец, железо, цинк, медь и другие микроэлементы [41, 131]. Имеет ограничения в применении у детей дошкольного возраста из-за выраженного горько-соленого вкуса. В настоящее время выпуск этого препарата приостановлен.

В целях повышения биодоступности данных схем лечения введение препаратов может осуществляться с помощью электрофореза, что значительно эффективнее чем обычные полоскания и аппликации. Электрофорез реминерализующих препаратов выполняется специалистом в физиотерапевтическом кабинете клиники и является одним из наиболее эффективных способов профилактики кариеса вследствие активного (под действием тока) введения ионов в твердые ткани зуба. Этот метод применим у взрослых, детей в старших возрастных группах и подростков, так как предполагает адекватное поведение пациента во время проведения процедуры. Выполнение этого метода требует наличие специального оборудования и непосредственное участие врача-стоматолога, что связано с многократным посещением пациентом стоматологического кабинета и рядом других неудобств, как для врача, так и для пациента [17, 41, 63, 84, 131].

Систематическое проведение описанных методик 3-4 раза в год позволяет снизить прирост кариеса на 30-40%, эффективность применения препаратов кальция и фосфатов повышается при их внедрении в эмаль при помощи электрофореза. Однако сложность проведения данных аппликаций в амбулаторных условиях, применение нескольких препаратов, кратковременный эффект, в связи с которым необходимостью являются частые повторные курсы лечения, предполагают замену данных схем лечения и препаратов более эффективными комбинированными препаратами.

С целью создания более эффективных ЛФ Мельниковой Т.Н. разработаны пленки реминерализующего действия, содержащие кальция глюконат и фурацилин на основе натрий-КМЦ [66].

Леонтьевым В.К. предложен к использованию для аппликаций разогретый 1-2% гель натрия фторида на 3% агаре курсом по 5-7 аппликаций, который после профессиональной чистки зубов кисточкой наносят на высушенные зубы, спустя 1-2 минуты, гель остывает в виде тонкой пленки [66, 79].

Современными требованиями к реминерализующим препаратам являются не только обеспечение долговременного контакта эмали, но и наличие адекватных количеств кальция и фосфатов, которые могут повысить рН околозубной среды и внедриться в зубную эмаль. Применение таких ЛФ позволяет в условиях массового стоматологического приёма минимизировать затраты времени, без использования сложных и дорогостоящих приборов [23, 145].

В конце 1990-х годов началась разработка препаратов «кальций-фосфатных технологий», широко используемых для профилактики и лечения кариеса, эрозий, истирания и гиперчувствительности эмали зубов. Основная проблема препаратов «кальций-фосфатных технологий» нестабильность препаратов с ионами кальция и фосфат ионов - быстрое объединение ионов в молекулы, взаимное осаждение и как следствие снижение биодоступности минералов [37].

Поэтому в состав бесфторидных «кальций-фосфатных» профилактических и терапевтических средств вводят относительно растворимые препараты кальция: глицерофосфат кальция, препараты на основе ремодента (получаемые из костной

ткани животных) и кальциса (водорастворимый дигидрофосфат, ацетат, лактат, сукцинат, цитрат и тартрат кальция) [117]. Недостатком таких соединений является не стойкий терапевтический эффект, что связано с отсутствием возможности моделирования фосфорно-кальциевого коэффициента и степени перенасыщенности кальция и фосфора слюны для достижения максимальной степени реминерализации.

При патентном обзоре выявлены современные средства реминерализующей терапии, производимые на территории РФ и за рубежом.

Пластины ЦМ-2, в качестве минерализующего компонента содержат кальций, и в виду отсутствия фосфат ионов имеют недостаточно высокий реминерализующий потенциал [63].

Продукт на основе мела SentiStat® представляет комплекс карбоната кальция и бикарбоната аргинина – аналог естественного кальцийтропного компонента слюны, обеспечивающий присоединение комплекса к поверхности зуба. Медленное растворение карбоната кальция на поверхности эмали способствует ее обогащению кальцием [117].

На основе препарата «Ремодент», созданного Пахомовым Г.А. и группой сотрудников ЦНИИ стоматологии, фирмой «ВладМиВа» разработан гель «Белгель Са/Р» пролонгированного воздействия. Длительность действия препарата достигается за счет образования пленки, из которой постепенно высвобождаются и проникают в эмаль реминерализующие ионы кальция, фосфата, магния, калия и т.д. В связи с отсутствием ионов фтора в этих препаратах фторирование осуществляется препаратами «Белгель F» и «Белак F», изготавливаемых на основе природного полисахарида хитозана. Однако последовательное применение нескольких препаратов делает данную схему затруднительной к применению в условиях амбулаторного лечения современного ритма жизни людей [41, 117, 124].

Формула NovaMin® представляет собой синтетическое стекло, химически натриевый фосфосиликат кальция. При контакте с эмалью натрий стекла замещается ионами водорода, фосфат и кальций мигрируют из стекла, создавая

условия для преципитации фосфата кальция. Формула NovaMin® включена в ряд продукции: зубные порошки и пасты Oravive Tooth Revitalizing Paste™ [142, 157, 165]. Однако абразивные компоненты зубных паст затрудняют проникновение минерализующих компонентов в эмаль, поэтому наиболее рационально использовать самостоятельные препараты для лечения и профилактики кариеса эмали.

Формула MINERALIN® (Россия, Швейцария) введена в состав зубных паст, ополаскивателей и гелей (гель реминерализующий R.O.C.S). В основе формулы лежит кальция глицерофосфат и магния хлорид, введенный для работы ферментов фосфатаз, гидролизующих глицерофосфат кальция, и ксилит [44, 48, 101, 102, 116, 117, 131, 157, 170]. Кальция глицерофосфат обеспечивает насыщение эмали двумя ионами, однако их соотношение 1:1, что обеспечивает недостаточный реминерализующий эффект.

В современных профилактических пастах и лаках применяют аморфный фосфат кальция (АСР) двухфазные системы, в которых растворимые соединения кальция и фосфатов хранятся отдельно и смешиваются перед аппликацией с образованием аморфного кальция фосфата. В 1987 году запатентована формула Recaldent™ – аморфный фосфат кальция, связанный с фосфопептидами казеина (СРР-АСР) [116, 157]. Действие препарата основано на казеиновом протеине, который содержит ионы кальция и фосфата. Казеин фосфопептид сохраняет кальций и фосфат в аморфном некристаллическом состоянии и обеспечивает высокую адгезию препарата к твердым тканям зуба, к пелликуле, к компонентам бляшки и мягким тканям полости рта, благодаря чему обеспечивает пролонгированное воздействие препарата [37, 111, 131, 137]. Сорбированный на эмали, комплекс СРР-АСР высвобождает в околозубную среду часть ионов кальция и фосфата, а часть АСР, все еще фиксированного казеином, поддерживает активность этих ионов, таким образом, обеспечивается градиент концентрации ионов фосфата и кальция, необходимого для перемещения ионов в подповерхностную зону очага деминерализации [48, 111, 116]. СРР-АСР вырабатывается из казеина молока, поэтому противопоказан пациентам с

аллергией на протеины молока и/или гидроксibenзоаты. Препараты на основе глицерофосфата кальция, АСР и СРР-АСР выпускаются в форме паст, муссов, геля и позиционируются как профессиональные средства [45, 55, 135, 142].

Добавление ионов кальция и фосфата в околозубную среду необходимое условие, но при низком уровне рН недостаточное для достижения перенасыщенности по гидроксиапатиту. Дополнительное внесение в такую среду фторид ионов позволяет достичь перенасыщенности по фторапатиту и получить преципитацию фторированного апатита. В то время как добавление в среду только одного фторид иона недостаточно для достижения перенасыщенности по фторапатиту из-за недостатка в среде ионов кальция и фосфатов, их внесение повышает шансы на репреципитацию фторированного апатита. Препараты Са-Р-Ф минерализующей терапии выпускаются в форме паст, геля и муссов для реминерализации тканей зуба и зачастую содержат высокие концентрации фторидов [23, 42, 59, 62, 117, 142, 167].

Фирмой «Норд-ост» предложена стоматологическая полимерная самоклеящаяся пленка «Диплен Ф» (РФ № 2245710), обеспечивающая поступление на поверхность зуба строго контролируемого количества фтора и хлоргексидина биглюконата, что способствует нормализации микробиоценоза полости рта и купированию дисбиоза, однако выраженность реминерализующего эффекта недостаточна, из-за наличия только одного реминерализующего компонента - фтора [5, 9, 82, 100, 131].

Компаниями «Germiphene Corporation» (Канада), DMG (Германия) и др. разработаны лечебно-профилактические средства в виде пенек. Активным компонентом их является 1,23% фторид натрия, подкисленный фосфорной кислотой (APF), что обеспечивает быстрое и эффективное поглощение фторида, всего за 60 секунд. Содержащийся в APF ион фосфата не позволяет развиваться деминерализации эмали, однако в научной литературе эффективность применения фторидных пенек с позиций доказательной медицины еще не подтверждена. Пасты и гели на основе СРР-АСРФ содержат 1,23% фтора и АСР, лак содержит 5% натрия фторида и АСР, гель «Topical A.P.F. Gel» представлен 1,23% фторидом

натрия. Однако применение повышенных доз фторида может привести к развитию флюороза зубов и способствует развитию скрытых форм кариеса [55, 65, 72, 116, 122].

Для повышения эффективности при использовании реминерализующих препаратов необходимо обеспечить их нанесение на «нуждающиеся», в том числе труднодоступные участки эмали, создать депо и предотвратить их быстрое вымывание. Это достигается путем прицельного нанесения препаратов в очаг деминерализации, использованием тиксотропных свойств гелей и хорошими адгезионными свойствами лекарственных форм к твердым тканям зуба.

Перспективными для применения в терапевтической стоматологии являются аппликационные ЛФ на основе полимеров – гель и ПЛ. В таблице 1 представлена сравнительная характеристика наиболее часто используемых аппликационных ЛФ для лечения и профилактики кариеса эмали.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика ассортимента аппликационных лекарственных форм для лечения кариеса эмали

Наименование	Страна произво- дитель	Требования реминерализующей терапии					
		состав	Са	PO ₄	Са:PO ₄	F	F ⁻ , %
		соединения кальция, фосфата и фтора	+	+	4:1	+	0,10 - 0,15%
Пластины ЦМ-2	Россия	экстракты зверобоя, тысячелистника, шалфея, витамины С, В1, кальция глицерофосфат	+	+	1:1	-	-
«Диплен Ф»	Россия	натрия фторид, хлоргексидина биглюконат	-	-	-	+	0,02%

Гель R.O.C.S.	Швейцария-Россия	глицерофосфат, магния хлорид	+	+	1:1	-	-
Гель Recaldent GS Tooth Mousse	Япония	СРР-АСР	+	+	-	-	-
Гель Topical A.P.F.	США	натрия фторид, фосфорная кислота	-	+	-	0:1	1,23%
Гель TOPEX «Neutral pH»	США	натрия фторид	-	-	-	+	0,9%

Представленные данные свидетельствуют об отсутствии на сегодняшний день универсального препарата для лечения и профилактики кариеса эмали, с высокой реминерализующей эффективностью и безопасным уровнем содержания фторид иона.

1.4. Создание аппликационных лекарственных форм на основе полимеров, как перспективное направление отечественной научно-практической фармации

Современными требованиями к реминерализующим препаратам являются обеспечение долговременного контакта эмали с адекватным количеством кальция, фосфатов и фторидов, превалирование фосфатов над кальцием в соотношении 4:1, связь основной массы ионов кальция с белками слюны, препятствующая их химическому взаимодействию с фосфатами, в условиях нейтральной или слабощелочной реакции слюны. Основные принципы реминерализующей терапии должны быть согласованы с аспектами социально-экономической жизни такими как удобство применения с минимальными затратами времени, без использования сложных и дорогостоящих приборов и доступная стоимость препарата.

Перспективным направлением является разработка ЛФ в виде гелей и ПЛ на основе полимеров, содержащих в своем составе основные минерализующие компоненты - кальций, фтор, фосфат и соответствующие основным принципам

реминерализующей терапии. Структурированное водное пространство в геле и ПЛ позволяет предотвратить взаимодействие кальция и фосфатов, что позволяет ионам легко высвободиться и взаимодействовать с эмалью зуба, а высокие концентрации ионов многократно увеличивают реминерализующий потенциал слюны.

Технологические аспекты создания ПЛ для местного применения сформулированы в ряде работ отечественных ученых. Мельниковой Т.Н. в 1996 г проведены исследования по подбору оптимальной полимерной композиции, разработке состава и технологии ПЛ реминерализующего действия. Блиновой О.А. в 1998 г предложена методология создания биорастворимой ПЛ «Крона», включающая подбор матрицы, модельное изучение процесса абсорбции, исследование технологических параметров. Ананьев В.Н., Новиков Ю.Т., Фурин В.А. разрабатывают рецептуры лекарственных желатиновых плёнок с иммобилизованными фармацевтическими субстанциями и методы их исследования, для применения в практической медицине: стоматологии, оториноларингологии, гинекологии и др. (1999 г, 2001 г, 2004 г). Голованенко А.Л. в 2000 г на основании биофармацевтических исследований предложен состав, разработана технология изготовления и определены технологические характеристики стоматологических анестезирующих ПЛ. Ерофеева Л.Н. в 2000 г сформировала принципы создания ЛП пролонгированного действия на основе полимеров, разработала составы и технологии 5 составов интраназальных пленок для лечения ринитов и синуситов. Мизиной П.Г. в 2001 г исследовано влияние вспомогательных веществ на влагопоглощение и биоадгезию, а также методы ее определения. В 2004 г Абакаровой Д.С. разработана солкосерилсодержащая пленка «Диплен-дента С» для лечения травм слизистой оболочки полости рта, а в 2008 г Гезаловой Н.К. разработана адгезивная пленка «Диплен-дента ПФ» для лечения дисколорита зубов. Алексеевой И.В. в 2007 г обоснован состав пленочной матрицы-носителя и технология биорастворимых ПЛ анилокаина. В 2015 г Обидченко Ю.А. проведены исследования по выбору наиболее перспективных пленкообразователей для получения трансбуккальных пленок,

разработан состав и технология стабильных быстрорастворимых трансбуккальных пленок седатина и тимодепрессина, обоснован выбор технологического оборудования для их производства.

Технологические аспекты создания мягких ЛФ на гидрофильных основах представлены отечественными учеными Муравьевым И.А. (1980 г), Марченко Л.Г. (2004 г) и Краснюком И.И. (2006 г). Алексеевой И.В. в 1999 г исследована возможность расширения ассортимента гидрофильных мазевых основ новыми комбинациями, предложены мазевые ЛФ местного анестетика анилокаина. Меркуловой Е.В. в 2006 г разработан гель с натрия фторидом на гидрофильных основах. Ахметовой Т.А. в 2008 г установлены значения реологического оптимума консистенции для глазных гелей, разработан состав и технология глазного геля ципрофлоксацина. Кульгав Е.А. в 2009 г обоснован состав вспомогательных веществ, разработан состав и технология стоматологического геля с CO₂ экстрактами гвоздики и эвкалипта. В 2011 г Федотовой А.А. реологическими исследованиями обоснована концентрация и выбор гелеобразователя, разработан состав и технология вагинальных гелей с сорбентами, изучено влияние вспомогательных веществ на растворимость и высвобождение ЛС. Номенклатура полимерных носителей мягких ЛФ широко представлена в работе Сливкина А.И. (2017 г).

Гели представляют собой структурированные упруговязкие системы, которые способны сохранять форму в отсутствие механического воздействия. Их легко наносить на зубную поверхность, при этом они хорошо удерживаются на ней и обеспечивают продолжительный контакт с обработанной поверхностью. Характерные свойства геля – одновременно твердого тела и жидкости – делают его одним из самых современных средств в стоматологии. Как твердое тело гель обладает способностью задерживаться на зубах, и как жидкость гель эффективен при аппликационном воздействии и электрофорезе. Гели имеют простую технологию и комфортны в применении. Гелеобразователями являются гидрофильные полимеры как природного, так и синтетического происхождения, которые обладают свойством образовывать водные внутренние структуры, что

позволяет включать в его состав химически несовместимые вещества, так как водная оболочка препятствует химической реакции между ними [75, 114].

Пленки лекарственные являются одной из самых современных ЛФ и достаточно ограниченно представлены в Государственном реестре ЛС РФ. Основой ПЛ является раствор полимера, который аналогично гелю структурирует водное пространство, позволяет регулировать кинетику высвобождения ЛС, сочетать в одной композиции ЛС, принадлежащие к разным фармакотерапевтическим и физико-химическим группам, что относит ПЛ к перспективному виду ЛФ. Они могут самостоятельно применяться пациентом, удобны и безопасны в использовании [32, 100]. Пленки на основе полимеров относятся к иммобилизованным системам локального действия, в которых направленная доставка осуществляется непосредственным введением препарата в зону патологии, что позволяет применять малые дозы ЛС при сохранении терапевтического эффекта. ПЛ характеризуются тем, что ЛС в них распределены в массе полимера, активно влияющего на кинетику их высвобождения. Физико-химической основой функционирования ПЛ является диффузия ЛС из полимерной матрицы. При контакте со слюнной жидкостью полимер набухает, что приводит к резкому увеличению коэффициента диффузии ЛС и их высвобождению через поры набухшего полимера и обеспечивает постоянство концентрации ЛС при прямом контакте со слизистой оболочкой полости рта с твердыми тканями зуба. Прочная фиксация ПЛ в заданной области обеспечивает направленность действия и создает удобства для пациента, т.к. пленка не выпадает и не мешает проглатыванию слюны [5, 6, 27, 115].

Актуальность создания ПЛ объясняется тем, что они позволяют индивидуализировать лечение с учетом многих факторов, определяющих развитие патологического процесса, позволяют реализовать весь комплекс медико-биологических требований к аппликационным ЛФ: конструктивная простота и надежность, технологичность, высокая адгезионная способность к влажным и твердым тканям СОПР, сохранение анатомо-физиологических свойств СОПР, соблюдение гигиенических норм, разницы рН и локализация действия,

обеспечение точности дозирования и постоянства концентрации ЛС в течении продолжительного времени, поступление ЛС к очагу поражения, удобство при транспортировке и хранении, возможность использования в лечении различных возрастных групп [5, 6, 15, 27, 66, 115].

На основании вышеуказанных данных можно сделать заключение, что гели и ПЛ являются наиболее рациональными ЛФ для применения в стоматологии при лечении и профилактике кариеса эмали. Благодаря полимерной основе они позволяют осуществить весь комплекс требований реминерализующей терапии и согласовать их с аспектами социально-экономической жизни пациентов.

Заключение по главе 1

Представленная в обзоре литературы информация свидетельствует о недостатке аппликационных ЛФ в ассортименте препаратов для профилактики и лечения кариеса эмали. Имеющиеся средства являются преимущественно монопрепаратами, которые не соответствуют в полной мере современным требованиями и не обеспечивают все возрастающие потребности терапевтической стоматологии, поэтому разработка новых, более совершенных ЛФ остается актуальной. Перспективным направлением является разработка безопасных и удобных в домашнем применении аппликационных ЛФ на основе полимеров – гелей и ПЛ, содержащих в своем составе основные минерализирующие компоненты (кальций, фтор и фосфат) в свободном состоянии и соответствующие основным принципам реминерализующей терапии. Применение геля и ПЛ позволяет индивидуализировать лечение и профилактику кариеса эмали, охватить большую часть населения и снизить общий уровень распространенности кариеса.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования и вспомогательные вещества

2.1.1. Объекты исследования

Кальция хлорид (ФС 42-0006-5675-04 Р.003964.01). Бесцветные кристаллы. Очень гигроскопичен, на воздухе расплывается. Легко растворим в воде, вызывая при этом сильное охлаждение раствора, легко растворим в 95% спирте.

Калия фосфат двузамещенный (ФС 42-1297-79). Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета; хорошо растворим в воде, сильно гигроскопичен.

Натрия фторид (ФС.2.2.0013.15). Бесцветные кристаллы или белый, или почти белый кристаллический порошок, растворим или умеренно растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96%.

2.1.2. Характеристика вспомогательных веществ

Геле, пленко - образующий полимер – Натрий-КМЦ С75 (ТУ 6-55-39-90). Белый или слегка желтоватый порошок или волокнистый продукт, растворяется с образованием прозрачных высоковязких и клейких растворов в холодной и горячей воде при 70°C, при более высокой температуре разлагается.

Гелеобразующий полимер - МЦ35 (ТУ 2231-107-57684455-2003). Аморфный порошок, или хлопьевидная масса белого или слегка желтоватого цвета, растворима в холодной воде, медленно растворима в теплой воде с образованием мутных высоковязких и клейких растворов, нерастворима в горячей воде.

Пластифицирующее вещество – глицерин (ФС.2.2.0006.15). Представляет собой прозрачную, бесцветную, сиропообразную жидкость. Гигроскопичен, смешивается с водой и 96% спиртом во всех отношениях, очень мало растворим в ацетоне, практически нерастворим в жирных маслах, имеет плотность 1,223-1,233.

Вода очищенная (ФС.2.2.0020.15). Бесцветная прозрачная жидкость.

Корригент вкуса - ксилит (ГОСТ Р 53904-2010). Белый кристаллический порошок со сладким вкусом и ощущением прохлады на языке хорошо растворим в воде.

Отдушка - эфирное масло мяты перечной (ТУ 9151-001-99535663-07).
Маслянистая жидкость бледновато-желтого или зеленоватого цвета со свежим мятным ароматом.

2.2. Методы исследования

Разработка новых ЛФ требует простых, селективных, высокоточных и объективных методов исследования ЛС, позволяющих осуществлять стандартизацию их как в момент получения, так и в процессе хранения. В работе использованы химические и физико-химические методы анализа, модифицированные с учетом специфики ЛФ.

2.2.1. Установление критериев подлинности активных компонентов геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Установление критериев подлинности активных компонентов геля и ПЛ для лечения кариеса эмали проводили характерными реакциями на катионы и анионы основных действующих компонентов.

Перед проведением анализа проводили пробоподготовку:

- навеску 1,0 г геля растворяли в 10 мл воды очищенной (Раствор геля А);
- навеску 0,15 г ПЛ растворяли в 10 мл воды очищенной (Раствор ПЛ А).

Испытание на подлинность кальция хлорида проводили реакциями на катион кальция и на хлорид ион:

1. Определение катиона кальция в геле проводили реакцией с аммония оксалатом раствором 4%, основанной на образовании труднорастворимого соединения согласно ОФС «Общие реакции на подлинность» [30, 118].

Методика: к 1 мл раствора геля А прибавляют 1 мл аммония оксалата раствора 4%; образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте, разведенной 30% и аммиака растворе 10%, растворимый в разведенных минеральных кислотах.

Определение катиона кальция в ПЛ проводили микрокристаллоскопической реакцией с серной кислотой разведенной 9,8%, основанной на образовании осадка дигидрата сульфата кальция в виде кристаллов характерной формы [86, 118].

Методика: на предметное стекло наносят 0,5 мл раствора ПЛ А и прибавляют каплю серной кислоты разведенной 9,8%, перемешивают стеклянной палочкой и подсушивают до белой каймы; образуются кристаллы дигидрата сульфата кальция в вид пучков, звезд или отдельных игл.

2. Определение хлорид иона проводили реакцией с серебра нитратом раствором 2%, основанной на образовании малодиссоциируемого соединения согласно ОФС «Общие реакции на подлинность» [30, 86].

Методика: к 2 мл раствора геля А (раствора ПЛ А) прибавляют 0,5 мл азотной кислоты разведенной 16% и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2%; образуется белый творожистый осадок, нерастворимый в азотной кислоте разведенной 16% и растворимый в аммиака растворе 10%.

Испытание на подлинность калия фосфата двузамещенного проводили реакциями на катион калия и на фосфат ион, основанными на образовании труднорастворимых соединений:

1. Определение катиона калия в геле проводили реакцией с винной кислотой раствором 20% согласно ОФС «Общие реакции на подлинность» [30].

Методика: к 2 мл раствора геля А прибавляют 1 мл винной кислоты раствора 20%, 1 мл натрия ацетата раствора 10%, 0,5 мл спирта этилового 96% и встряхивают, постепенно образуется белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Определение катиона калия в ПЛ проводили реакцией с натрия кобальтинитритом раствором 10% в среде уксусной кислоты разведенной 30%, основанной на образовании окрашенного нерастворимого комплекса гексанитрокобальтата натрия - дикалия желтого цвета согласно ОФС «Общие реакции на подлинность» [30, 86].

Методика: к 2 мл раствора ПЛ А прибавляют при перемешивании 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30% и 0,5 мл натрия кобальтинитрита раствора 10%; образуется желтый кристаллический осадок.

2. Определение фосфат иона в геле проводили реакцией с серебра нитратом раствором 2% согласно ОФС «Общие реакции на подлинность» [30].

Методика: к 2 мл раствора геля А, нейтрализованного до рН около 7,0, прибавляют 4 -5 капли серебра нитрата раствора 2%, перемешивают; образуется желтый осадок, растворимый в азотной кислоте разведенной 16% и аммиака растворе 10%.

Определение фосфат иона в ПЛ проводили реакцией с аммония молибдатом раствором в серной кислоте концентрированной и олова хлоридом раствором 1% в среде серной кислоты раствора 50%, основанной на образовании окрашенного комплекса фосфат-молибдат аммония желто-зеленого цвета [86].

Методика: к 2 мл раствора ПЛ А прибавляют 2 мл серной кислоты раствора 50%, 2 мл аммония молибдата раствора в серной кислоте концентрированной и 1 мл олова хлорида раствора 1%, перемешивают; образуется желто-зеленое окрашивание.

Испытание на подлинность натрия фторида проводили реакциями на катион натрия и на фторид ион:

1. Определение катиона натрия в геле и ПЛ проводили микрокристаллоскопической реакцией с раствором калия пироантимоната, основанной на образовании кристаллов характерной формы [30, 49].

Методика: в каплю насыщенного раствора калия пироантимоната вводят каплю выпаренного раствора геля А (раствора ПЛ А); раствор выпаривают досуха и сухой остаток смачивают насыщенным раствором калия пироантимоната. При медленной кристаллизации или при незначительном количестве натрия образуются кристаллы в виде призм.

2. Определение иона фтора в геле и ПЛ проводили реакцией с цирконил-ализариновым комплексом, основанной на разрушении цирконил-ализаринового комплекса в присутствии фторид иона [33].

Методика: к 1 мл раствора геля А прибавляют по 5 мл кислого раствора хлористого цирконила и раствора ализаринового красного С, наблюдается изменение окраски раствора от красно-фиолетовой до желтой.

Методика: к 0,5 мл раствора ПЛ А прибавляют по 1 мл кислого раствора хлористого цирконила и раствора ализаринового красного С, наблюдается изменение окраски раствора от красно-фиолетовой до желтой.

2.2.2. Методы количественного определения активных компонентов геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Для количественного определения активных компонентов в геле и ПЛ использовали титриметрическими и инструментальные методы анализа, модифицированными с учетом специфики ЛФ.

Количественное определение кальция хлорида

Количественное определение кальция хлорида проводили методом комплексонометрии, с использованием в качестве титранта 0,05М раствор натрия эдетата. Метод основан на образовании прочного растворимого бесцветного комплекса ионов кальция с натрия эдетатом состава 1:1. Реакция протекает в щелочной среде, при рН=10. Для создания необходимого значения рН использовали аммиачный буферный раствор. Так как при апробации прямого способа титрования, после добавления к анализируемому раствору аммиачного буферного раствора выпадет обильный осадок кальция фосфата, была предложена методика обратного титрования [19, 40, 86, 118, 126].

Методика количественного определения кальция хлорида в геле для лечения кариеса эмали: около 0,5 г геля (точная навеска) растворяют в 40 мл воды очищенной, к полученному раствору добавляют 10,0 мл 0,05М раствора натрия эдетата, 10,0 мл аммиачного буферного раствора, 2 капли раствора индикаторной смеси кислотного хромового темно-синего, перемешивают до получения однородной смеси, и титруют 0,1М раствором магния сульфата до перехода окраски от синей до красно-фиолетовой. Параллельно проводят контрольный опыт.

Методика определения кальция хлорида в ПЛ: около 0,50 г (точная навеска) ПЛ растворяют в 40 мл воды очищенной, к полученному раствору добавляют 5,0 мл 0,05М раствора натрия эдетата, 5,0 мл аммиачного буферного раствора и 2 капли раствора индикаторной смеси кислотного хромового темно-синего, перемешивают до получения однородной смеси, и титруют 0,1М раствором магния сульфата до перехода окраски от синей до красно-фиолетовой. Параллельно проводят контрольный опыт.

Содержание кальция хлорида на 100,0 г геля и СТД ПЛ рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{T \times (V_{\text{к.о.}} - V) \times K \times P}{a}, \text{ где}$$

X - содержание кальция хлорида в ЛФ, г;

T- титр 0,05 М раствора натрия эдетата по кальция хлориду, г/мл;

P - масса ЛФ, в геле на 100,0 г, в ПЛ на СТД размером 1x2 см 0,05 г;

V - объем титрованного раствора, пошедшего на титрование, мл;

$V_{\text{к.о.}}$ - объем титрованного раствора, пошедшего на титрование контрольного опыта, мл;

K - коэффициент поправки;

a - масса навески ЛФ, г.

Количественное определение калия фосфата двузамещенного

Для количественного определения калия фосфата двузамещенного в геле для лечения кариеса эмали использовали ацидиметрический метод, вариант вытеснения. Метод основан на способности сильной кислоты вытеснять более слабую из ее соли. В качестве титранта использовали 0,1М раствор хлористоводородной кислоты [40].

Методика количественного определения калия фосфата двузамещенного в геле для лечения кариеса эмали: около 0,5 г (точная навеска) геля растворяют в 40 мл воды очищенной, прибавляют 10,0 мл натрия хлорида насыщенного раствора, 3 капли раствора метилового оранжевого спиртового раствора 0,1%,

перемешивают до получения однородной смеси и титруют 0,1М раствором хлористоводородной кислоты до розового окрашивания.

Содержание калия фосфата двузамещенного на 100,0 г геля рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{T \times V \times K \times P}{a}, \text{ где}$$

X - содержание калия фосфата двузамещенного в ЛФ, г;

T- титр 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной по калия фосфату двузамещенному, г/мл;

P - масса геля, г;

V - объем титрованного раствора, пошедшего на титрование, мл;

K - коэффициент поправки;

a - масса навески ЛФ, г.

Для количественного определения калия фосфата двузамещенного в ПЛ использовали метод фотоэлектроколориметрии. Метод основан на свойстве окрашенных растворов поглощать полихроматический свет в видимой области спектра. Определение проводили при длине волны 390 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм, относительно воды очищенной. Для получения окрашенного раствора использовали реакцию с аммония молибдатом раствором в серной кислоте концентрированной и олова хлоридом раствором 1% в среде серной кислоты раствора 50% [86].

Методика количественного определения калия фосфата двузамещенного в ПЛ: около 0,1 г (точная навеска) ПЛ вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 5 мл воды очищенной, добавляют 2,0 мл серной кислоты раствора 50%, 4,0 мл аммония молибдата раствора в серной кислоте концентрированной и 1,0 мл олова хлорида раствора 1%, перемешивают до образования однородной смеси, доводят водой очищенной до метки и перемешивают полученный раствор.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО, приготовленного по следующей методике: 1,0 мл калия фосфата двузамещенного стандартного раствора 25% вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и

доводят водой очищенной до метки, полученный раствор перемешивают. 8,0 мл приготовленного раствора вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и добавляют 2,0 мл серной кислоты раствора 50%, 4,0 мл 1% аммония молибдата раствора в серной кислоте концентрированной, 1,0 мл олова хлорида раствора 1%, доводят водой очищенной до метки и перемешивают полученный раствор.

Содержание калия фосфата двузамещенного в СТД ПЛ рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_{АН} \times a_{СТ} \times V_{МК} \times V_{ПИП} \times P}{A_{СТ} \times a_{АН} \times V_{МК1} \times V_{МК2}}, \text{ где}$$

X – содержание калия фосфата двузамещенного в ЛФ, г;

$A_{АН}$ - оптическая плотность анализируемого раствора;

$A_{СТ}$ - оптическая плотность раствора РСО;

P - масса ЛФ, на СТД ПЛ размером 1x2 см, 0,05 г;

$a_{АН}$ - масса навески ЛФ, г;

$a_{СТ}$ - навеска РСО, г;

$V_{МК}$ - объем мерной колбы для растворения ПЛ – 25 мл;

$V_{МК1}$ - объем мерной колбы для растворения навески РСО – 100 мл;

$V_{ПИП}$ - объем пипетки для взятия разведения РСО – 8 мл;

$V_{МК2}$ - объем второй мерной колбы для разведения РСО – 25 мл.

Количественное определение натрия фторида

Для количественного определения натрия фторида использовали фотоэлектроколориметрический метод. Определение проводили при длине волны 520 нм, в кювете с толщиной слоя 20 мм, относительно воды очищенной [33].

Методика количественного определения натрия фторида в ПЛ и геле для лечения кариеса эмали: около 0,10 г ПЛ или 1,0 г геля (точная навеска) вносят при перемешивании в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 5,0 мл (точный объем) 0,05М раствора натрия эдетата, 5,0 мл (точный объем) аммиачного буферного раствора и доводят объем водой очищенной до метки, полученный раствор перемешивают до однородности. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, в колбу добавляют по 10,0 мл (точный

объем) раствора ализаринового красного С и раствора хлористого цирконила и доводят объем до метки водой очищенной. Раствор тщательно перемешивают и выдерживают в течение 30 минут.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО, приготовленного по следующей методике: 0,10 мл (точный объем) натрия фторида рабочего стандартного раствора 0,2% помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл добавляют 5,0 мл (точный объем) 0,05М раствора натрия эдетата, 5,0 мл (точный объем) аммиачного буферного раствора, доводят объем водой очищенной до метки и тщательно перемешивают. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, в колбу добавляют по 10,0 мл (точный объем) раствора ализаринового красного С и раствора хлористого цирконила, доводят объем до метки водой очищенной. Раствор тщательно перемешивают и выдерживают в течение 30 минут.

Содержание натрия фторида в СТД ПЛ и на 100,0 г геля рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(1 - A_{ан}) \times a_{ст} \times P}{(1 - A_{ст}) \times a_{ан}}, \text{ где}$$

X – содержание натрия фторида в ЛФ, г;

$A_{ан}$ - оптическая плотность анализируемого раствора;

$A_{ст}$ - оптическая плотность раствора РСО;

$a_{ан}$ - масса навески ЛФ, г;

$a_{ст}$ - содержание натрия фторида в навеске РСО, г;

P - масса ЛФ, в геле на 100, 0 г, на СТД ПЛ размером 1x2 см, 0,05 г.

2.2.3. Физико-химические и технологические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Определение высыхаемости геля. С целью определения устойчивости геля к потере влаги при хранении, а также с целью выбора оптимального тароупаковочного материала проводили исследование высыхаемости в трех параллелях [3].

Методика: образцы помещают в специальные кюветы, заполненные до краев, избегая пустот. Излишки образцов удаляют шпателем, чтобы оставалась ровная поверхность испарения. Заполненные кюветы хранят при комнатной температуре и относительной влажности не более $60 \pm 5\%$ в течение месяца, в месте, исключая загрязнение. Взвешивание проводят ежедневно в течение первых 5-ти дней, далее взвешивают на 10-й, 15-й, 20-й, 25-й, 30-й дни от начала опыта. Вычисляют расчет убыли массы кюветы с гелем, которую выражают в процентах к первоначальному весу.

Определение реологических показателей геля и поливочного раствора

ПЛ. Исследования реологических свойств проводили на ротационном вискозиметре «Rheotest 2.1» (Германия) с коаксиальными цилиндрами.

Методика: измерение выполняют при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$, исследуемый гель (поливочный раствор) помещают в цилиндр ротационного вискозиметра и снимают показания шкалы измерительного устройства в диапазоне $0,556 - 243 \text{ с}^{-1}$ сдвиговых скоростей, при ступенчатом (12 ступеней) повышении и уменьшении. На каждой ступени регистрируют показания прибора через 2-3 секунды. Касательное напряжение сдвига рассчитывают по формуле:

$$\tau = \alpha * I \text{ const, где}$$

τ – касательное напряжение сдвига (н/м^2);

α - показания вискозиметра;

$I \text{ const}$ – постоянная цилиндра.

Средние результаты при испытании 5 образцов одной серии геля использовали для построения реограмм течения и расчета величин вязкости. Значение эффективной вязкости рассчитывали по формуле:

$$\eta = \frac{\tau}{D}, \text{ где}$$

η – эффективная вязкость ($\text{Па}\cdot\text{с}$);

τ – касательное напряжение сдвига (н/м^2);

D – скорость деформации (с^{-1}).

По результатам исследования, строили реограммы течения, отражающие зависимости скорости деформации от напряжения сдвига.

Определение рН водного раствора геля и ПЛ проводили потенциометрическим методом согласно ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия» [5, 27, 30].

Методика: навеску 1,0 г геля растворяют в 50 мл воды очищенной, свободной от диоксида углерода, комнатной температуры, перемешивают и регистрируют рН водного раствора геля.

Методика: 3 СТД ПЛ размером 10*20 мм растворяют в 20 мл воды очищенной, свободной от диоксида углерода, при комнатной температуре, перемешивают и регистрируют рН водного раствора ПЛ.

Исследование кинетики набухания ПЛ

Для изучения кинетики набухания около 0,10 г ПЛ (точная навеска) помещают в стеклянный бюкс с водой очищенной в объеме 3,0 мл. Через 5 минутные временные интервалы ПЛ извлекают, осушают фильтровальной бумагой и взвешивают на аналитических весах.

Степень набухания рассчитывают по формуле:

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0} * 100\%, \quad \text{где}$$

α – степень набухания, %;

m_0 – исходная масса навески ПЛ, г;

m – масса навески ПЛ после набухания, г.

Определение средней массы. Средняя масса ПЛ влияет на точность дозирования. Среднюю массу образца ПЛ размером 10*20 мм определяют путем взвешивания на аналитических весах 10 ПЛ с точностью до 0,0001 г и выведения среднего арифметического. Отклонение в массе для ПЛ до 0,1 г и менее допускается $\pm 10\%$ [5, 27].

Определение толщины. Толщина ПЛ определяет степень адгезии и равномерный контакт с поверхностью. Толщину ПЛ определяют в средней пробе (10 ПЛ) с помощью микрометра марки КМС -25 в соответствии с ГОСТ 6507-90, ПЛ должны быть не более 0,5 мм [5, 27].

Размеры сторон СТД определяют с помощью линейки по ГОСТ 427-75, они должны соответствовать $10*20 \pm 0,5$ мм [5, 27].

Определение времени растворения. Время растворения определяют путем растворения образца ПЛ размером $10*20$ мм в 2,50 мл воды очищенной при комнатной температуре и периодическом встряхивании (5 мин), не допуская прилипания ПЛ к стенкам пробирки, секундомером измеряют время до полного растворения ПЛ [5, 27].

Потеря в массе при высушивании. Необходимость исследования заключается в том, что повышенное содержание влаги влияет на стабильность активных компонентов ПЛ в процессе хранения и отражает пригодность упаковки. Потерю в массе при высушивании определяли согласно ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» [5, 14, 27, 30].

Методика: около 0,150 г (точная навеска) ПЛ помещают в предварительно высушенный до постоянной массы бюкс и высушивают в сушильном шкафу при температуре $100-105^{\circ}\text{C}$ в течении 5 часов, охлаждают в эксикаторе, взвешивают и рассчитывают процентное содержание влаги по формуле:

$$X = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100\%, \text{ где}$$

m_1 - масса бюкса, доведенного до постоянной массы, г;

m_2 - масса бюкса с испытуемым образцом до высушивания, г;

m_3 - масса бюкса с испытуемым образцом после высушивания, г.

2.2.4. Биофармацевтические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Способность ЛФ обеспечивать оптимальную фармацевтическую доступность ЛС является основным показателем, определяющим эффективность препарата. Динамика высвобождения активных компонентов из матричного носителя в раствор позволяет прогнозировать концентрацию активных веществ в организме и добиваться наиболее значительного терапевтического эффекта. Для исследования кинетики высвобождения ионов ЛС из полимерной основы

применяли физико-химический метод анализа – кондуктометрию, основанную на изучении электрической проводимости водного раствора [7].

Значение удельной электрической проводимости определяли по сопротивлению раствора, которое измеряли с помощью установки, состоящей из измерительного прибора – кондуктометра марки НІ 8733 и кондуктометрической ячейки. Модельной средой служила вода очищенная, выбор данной среды основывался на рекомендациях существующих кондуктометрических методик. Объем воды очищенной соответствовал такому количеству, чтобы навеска ЛФ могла переходить в растворенное состояние. В условиях проводимого эксперимента сопротивление мембраны диффузионному потоку ЛС было равно нулю, ее функцию выполняла вода. Это обеспечивало полное высвобождение компонентов ЛФ. Одним из требований, предъявляемым к растворителю, является небольшое значение электропроводимости [97, 98].

Методика: около 0,20 г ПЛ или 1,0 г геля (точная навеска) помещают на дно цилиндра, диаметром 40 мм, объемом 150 см³, добавляют 100 мл воды очищенной, опускают электрод, подключенный к кондуктометру, уровень жидкости при этом должен превышать верхний край электрода, в ходе эксперимента систему термостатируют в интервале температур от $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ до $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$, что обеспечивают использованием контактного термометра (ГОСТ 9871-75). Через каждые 3 минуты измеряют удельную электрическую проводимость ($\kappa \cdot 10^4$, См*м⁻¹). По результатам эксперимента строят кривые динамики высвобождения ЛС из образцов геля и ПЛ.

Параллельно изучали высвобождение ЛС методом диализа с кондуктометрическим контролем. При этом способе, проводимом *in vitro*, между исследуемой ЛФ и средой, в которую диффундируют ЛС, помещают полупроницаемую мембрану. Модельной средой для проведения диализа служила вода очищенная. Прибор для диализа состоял из химического стакана емкостью 150 мл, диализной трубки с внутренним диаметром 28 мм и высотой 210 мм. Моделью полупроницаемой мембраны служил целлофан марки «Купрофан» [96, 97].

Методика: целлофановую мембрану закрепляют на стеклянной трубке и помещают в диализный стакан. 1,0 г геля (точная навеска) или растворенные в 5 мл воды очищенной 0,20 г ПЛ (точная навеска), помещают в стеклянную трубку на мембрану. Диализной средой служит вода очищенная в количестве 100 мл. Через каждые 3 минуты измеряют значение удельной электропроводимости. В ходе эксперимента систему термостатируют при температуре $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и перемешивают перед измерением.

2.2.5. Микробиологические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Оценка антимикробной активности

Антимикробную активность определяли согласно ОФС.1.2.4.0010.15 «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар», модифицированной с учетом специфики ЛФ [30]. В качестве тест-культур микроорганизмов использовали *Staphylococcus aureus* (штамм 6538Р АТСС), *Escherichia coli* (штамм 25922 АТСС), *Candida albicans* (штамм АТСС 885-653). Посев изучаемой культуры в разведении 10^{-5} КОЕ/мл проводили методом газона, диаметр лунок составлял 7 мм, учет результатов антибактериальной активности проводили через 22-24 часа инкубирования при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$, противогрибковой активности через 44-48 часов инкубирования при температуре $(24\pm 1)^{\circ}\text{C}$. Оценку антимикробной активности определяли по зоне задержке роста тест-микроорганизмов вокруг лунок на питательных средах. Антимикробная активность оценивалась при диаметре до 15 мм как низкая, при диаметре до 25 мм – средняя и при диаметре выше 25 мм - высокая.

Исследование антимикробной активности на представителей индигенной микрофлоры полости рта проводили относительно тест-штаммов *Lactobacillus plantarum* (штамм 8Р-А3) путем оценки выживаемости и определением активности кислотообразования *Lactobacillus plantarum*.

Для оценки выживаемости в пробирки с питательной средой МРС-1 помещали исследуемые вещества и бактериальную суспензию лактобактерина

(препарат «Лактобактерин» регидратированный 5,0 мл раствора натрия хлорида 0,9%), выдерживали при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течении 24 часов. По окончании инкубации высевали по 0,1 мл микробной взвеси на питательной среде МРС-4, инкубировали в течение 48 часов при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ и производили подсчёт выросших колоний [123].

Определение активности кислотообразования проводили титриметрическим методом. Микробную суспензию из опыта определения выживаемости лактобактерий в объёме 10,0 мл переносили в мерный стакан, добавляли фенолфталеин, перемешивали, опускали электроды иономера в пробу и титровали 0,1М раствором натрия гидроксида до $\text{pH}=8,5$ и появления слабо-розовой окраски. Кислотность выражали в градусах Тернера ($^\circ\text{T}$) и вычисляли по формуле:

$$^\circ\text{T} = V_{0,1\text{MNaOH}} \times K_{0,1\text{MNaOH}} \times 10, \text{ где}$$

$^\circ\text{T}$ – условная величина, выраженная в градусах Тернера;

$V_{0,1\text{M NaOH}}$ – количество мл раствора натрия гидроксида 0,1М, пошедшее на титрование 10 мл образца;

$K_{0,1\text{M NaOH}}$ – поправка к титру 0,1М раствора натрия гидроксида;

10 – объём образца, взятого на титрование.

Микробиологическую чистоту определяли согласно ОФС.1.2.4.0001.15 «Микробиологическая чистота», путем разведений с последующим количественным определением колоний аэробных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) на 1,0 г образца и на наличие или отсутствие представителей семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* [30].

2.2.6. Фармакологические и токсикологические методы исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Оценка острой токсичности

Экспериментальное изучение острой токсичности проводилось на половозрелых беспородных мышах в соответствии с Методическими рекомендациями Фармакологического государственного комитета [69, 119]. Животные были разделены на 2 опытные группы (по 10 мышей в каждой): гель и ПЛ для лечения кариеса эмали. Перед введением исследуемых веществ, животных лишали пищи, но не воды, на ночь. По пришествию периода голодания животных взвешивали и на основании данных массы тела высчитывали дозу, затем вводили вводимый раствор тестируемых препаратов однократно, перорально. За животными вели наблюдение в течении 14 суток, фиксируя поведение, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координацию движений, тонус скелетной мускулатуры, реакцию на тактильные, звуковые, световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние волосяного и кожного покрова, окраску видимых слизистых оболочек, потребление воды и пищи, изменение массы тела.

Рассчитывали острую токсичность, соблюдая рекомендации государственного фармакологического комитета по изучению общетоксического действия биологически активных веществ. Величину ЛД₄₀ вычисляли по Литчфилду и Уилкоксону.

Расчетный безопасный курс (РБК) вычисляли по формуле:

$$\text{РБК} = \frac{\text{суточная доза для животных, вызвавших изменение} * \text{длительность введения}}{\text{суточная доза для человека} * \text{Кп}}, \text{ где}$$

Кп - коэффициент пересчета величины дозы препарата с животного на человека.

Индекс безопасности (ИБ) рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{ИБ} = \frac{\text{РБК}}{\text{клинический курс}}.$$

Класс токсичности ЛФ определяли по значению индекса безопасности в соответствии с классификацией опасности ЛП для клинического применения.

Оценка противовоспалительной активности

Исследование противовоспалительной активности проводили на модели каррагенинового отёка на белых неинбредных крысах при пероральном введении и при наружном нанесении тестируемых препаратов в соответствии с Методическими рекомендациями Фармакологического государственного комитета [69, 119].

Исследование проводилось на 120 крысах (60 самцов, 60 самок), по 10 животных в каждой группе (5 самцов и 5 самок), массой 200 – 220 г в возрасте 14-16 недель. Животных распределяли по группам случайным отбором по массе тела так, чтобы индивидуальный вес тела входил в диапазон вариации $\pm 10\%$ от среднего значения показателя для каждого пола. Животные были разделены на 12 опытных групп:

1. Пероральное введение исследуемых веществ: 1 - опытная группа, ПЛ; 2- контрольная группа, плацебо пленки; 3 - опытная группа, гель для лечения кариеса эмали; 4 - контрольная группа, плацебо гель; 5 - группа сравнения таблетки Диклофенак, 50 мг; 6 - контрольная группа («чистый контроль», интактные животные).

2. Наружное нанесение исследуемых веществ: 1 - опытная группа, ПЛ; 2- контрольная группа, плацебо пленки; 3 - опытная группа, гель для лечения кариеса эмали; 4 - контрольная группа, плацебо гель; 5 – группа сравнения «Диклак»[®] 5% гель; 6 - контрольная группа («чистый контроль», интактные животные).

В качестве препарата сравнения для перорального введения использовали таблетки Диклофенак, покрытые оболочкой, 50 мг, производство ООО «Хемофарм», Россия, Калужская область, г. Обнинск и для наружного нанесения «Диклак»[®] 5% гель для наружного применения, производство Салютас Фарма ГМБХ, Германия.

Острую воспалительную реакцию (отёк) воспроизводили субплантарным (подподошвенный или плантарный апоневроз) введением 0,10 мл 1% раствора каррагенина. Выраженность воспалительной реакции оценивали через 3 часа

после индукции воспаления по изменению объёма лапы онкометрически, определяя объём воды, вытесненной из полностью заполненного сосуда лапой животного. Критерием эффективности служило достоверное уменьшение отёка лапы не менее чем на 30% по сравнению с контролем [69, 119].

Исследуемые и контрольные вещества растворяли в воде очищенной, ее количество рассчитывали таким образом, чтобы вводимое количество составляло 0,2 мл на 100 г крысы.

При оценке влияния перорального введения на острое экссудативное воспаление тестируемые вещества вводили в максимальной суточной дозе с учетом веса животного зондом в желудок животных за 1 час до индукции воспаления каррагенином согласно Руководству [69, 119]. В группе сравнения использовали таблетки «Диклофенак» в дозе 20 мг/кг крысы для достоверного проявления противовоспалительного эффекта. Контрольной группе «чистый контроль» перорально вводили эквивалентное количество воды очищенной.

При оценке влияния наружного нанесения на острое экссудативное воспаление наносили тестируемые вещества, а в группе сравнения гель «Диклак»[®] наносили накожно, на поверхность задней лапы крысы два раза с интервалом в 1 час с последующей индукцией воспаления каррагенином на той же конечности через 1 час после последнего нанесения вещества согласно Руководству [69, 119]. При наружном нанесении исследуемых и контрольных веществ использовали дозы аналогичные дозам для перорального введения. В группе сравнения использовали «Диклак»[®] гель 5%. Гель наносили из расчёта аналогичной для перорального введения дозы 20 мг/кг крысы. При наружном нанесении крысы из контрольной группы (чистый контроль) оставались полностью интактными.

Противовоспалительный эффект оценивали по уменьшению отёка, выраженного в процентах к контролю. Расчёт производили по следующему алгоритму:

1. Рассчитывали прирост объёма лапы через 3 часа после индукции воспаления по отношению к собственному фоновому значению:

$$\Delta V = V_{\text{фон}} - V_{\text{через 3 часа после введения каррагинина}};$$

2. Рассчитывали среднее значение ΔV по группе (М);
3. Рассчитывали долю изменения объёма лапы по отношению к аналогичному показателю контрольной группы («чистый контроль»), выраженную в процентах:

$$(M/M \text{ контрольной группы}) * 100\%.$$

Оценка реминерализующей активности

Исследование проводили на визуально интактных зубах, удаленных по ортодонтическим и ортопедическим показаниям у лиц 20-35 лет, образцы предоставлены стоматологической больницей клинического многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России. Удаленные зубы хранили в термостате при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ в растворе искусственной слюны [21, 78].

Опытные образцы были разделены на 2 группы:

- 1 - гель для лечения кариеса эмали,
- 2 – ПЛ для лечения кариеса эмали.

Исследование проводили на 20 опытных образцах, по 10 зубов в каждой группе. Каждый зуб предварительно очищали с использованием щетки и пасты, не содержащей фтора и распиливали на две равные части, одна половина зуба служила контролем и не поддавалась лечению, вторая половина зуба подвергалась полному курсу лечения. Ежедневно в течении 14 дней один раз в день проводили 15 минутные аппликации путем нанесения геля или фиксации ПЛ на поверхность зубной эмали опытных образцов, при постоянной температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$, в перерывах между лечением зубы находились в термостате в растворе искусственной слюны [78].

Исследование реминерализующей активности проводили методом определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro*, использовали 10 опытных образцов (по 5 зубов с каждой группы). Также для получения наиболее полной картины процесса реминерализации проводили гистологическое исследование

зубов, использовали оставшиеся 10 опытных образцов (по 5 зубов с каждой группы).

Метод определения кальция и фосфора в золе эмали in vitro основан на озолении зуба и последующим определением в нем кальция и фосфора химическими и инструментальными методами [58].

Исследуемые образцы озоляли отдельно друг о друга при температуре 450-500°С в муфельной печи. Полученную золу использовали для определения кальция и фосфора.

Количественное определение кальция проводили методом обратного комплексонометрического титрования [19, 86, 118, 126].

Методика: около 10,00 мг (точная навеска) золы растворяют в 0,50 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, после полного растворения золы добавляют 10,0 мл воды очищенной и 5,0 мл 0,05М раствора натрия эдетата, перемешивают и добавляют аммиачный буферный раствор при перемешивании до рН=12,5, для исключения определения сопутствующих ионов магния. Индикатором служил кислотнo-хромовый темно синий. Избыток 0,05М раствора натрия эдетата оттитровывали 0,1М раствором магния сульфата. Параллельно проводили контрольный опыт. Аналитическим сигналом являлся переход окраски от синей до красно-фиолетовой. Расчет процентного содержания кальция вели по формуле:

$$C = \frac{T*(V1-V2)*K*100}{a}, \text{ где}$$

C – количество кальция в %, на 10 мг золы, %;

T– титр кальция по трилону Б, г/мл;

V1/V2 – количество мл титрованного раствора, пошедшего на титрование контрольной/опытной пробы, мл;

K– коэффициент поправки к молярности титрованного раствора;

100 – фактор пересчета в %,

a – исследуемая навеска золы, г.

Количественное определение фосфора проводили методом фотоэлектроколориметрии, для получения окрашенного раствора использовали реакцию молибденовой сини (сернокислый раствор молибдата натрия в водном растворе гидразина сульфата) [58].

Методика: около 10,00 мг (точная навеска) золы растворяют в 0,50 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, и количественно разводят в мерной колбе вместимостью 250 мл. К 1,0 мл раствора золы добавляют смесь натрия молибдата в серной кислоте раствора 0,25% и гидразина - сульфата водного раствора 0,15% в соотношении 2,5:1, перемешивают и выдерживают на кипящей водяной бане в течении 10 минут и определяют оптическую плотность при длине волны 650 нм против холостого контроля. Аналогично проводят исследование с 1 мг % стандартным раствором фосфора. Расчет процентного содержания фосфора ведут по формуле:

$$C = \frac{A \cdot 0,01 \cdot 250 \cdot 100}{B \cdot 10}, \text{ где}$$

A – оптическая плотность исследуемого раствора;

B - оптическая плотность стандартного раствора;

0,01 – содержание фосфора в мг в 1 мл стандарта;

10 – количество мг золы в исследуемой навеске;

250 – объем, в котором растворена навеска;

100 – фактор пересчета в %;

C – количество фосфора в %, на 100 г золы, %.

Гистологическое исследование позволяет подробно описать морфологическое строение и определить структуру ткани зуба до и после лечения гелем и ПЛ для лечения кариеса эмали [24, 26].

Проводили вырезку коронковой и корневой части зубов, которая предполагает взятие адекватного для исследования объема зубной ткани. Зуб целиком помещали в декальцинирующий состав на 8 – 12 дней в азотную кислоту раствора 5% при комнатной температуре. Раствор кислоты заменяли ежедневно, под контролем степени деминерализации исследуемых зубов. Контроль

осуществлялся ежедневной пробой на извлечение кальция натрия оксалатом раствором 1%. Когда ткани зуба приобретали мягкую консистенцию, проводили вырезку материала с возможностью дальнейшего изучения структуры всех его основных компонентов.

Взятые для исследования кусочки укладывали в пластмассовые кассеты для вырезки оперативно удаленных объектов размерами 2,8*4*0,5 см. Прошедший визуальный осмотр зуб в кассете для заливки помещали в забуференный формалин 10% (рН 7,0 - 7,2). Далее осуществляли проводку материала по спиртам возрастающей крепости для обезвоживания и уплотнения ткани с использованием гистопроцессора - автомата LEICA TP 1020 с заданным циклом проводки 18 часов.

После проводки кусочки подвергали заливке в особо чистый парафин без примесей (среда «гистомикс») с температурой плавления 56°C. Для этого использовали аппарат для заливки кусочков в парафин Thermo scientific Histostar. С полученных парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 2-3 мкм на микротоме-полуавтомате Microm HM 325.

Проводили окрашивание срезов:

1. Гематоксилином и эозином (обзорная методика) - сочетает в себе основной и кислый красители. Позволяет микроскопически выявить все клетки и неклеточные структуры, установить их микроскопическое взаимоотношение. Ядра при этом методе окрашивания приобретают сине-фиолетовый цвет (окрашиваются гематоксилином), а цитоплазма - розовый цвет (окрашивается эозином) [24, 26].

2. Окраска ван Гизон - красителем в данном методе является смесь пикриновой кислоты и кислого фуксина. В препаратах, окрашенных данным методом, коллагеновые волокна (содержащиеся в межклеточном веществе соединительной ткани) окрашиваются в ярко - красный цвет, а элементы других тканей (например, мышечные волокна) в зеленый цвет с наличием черного цвета ядер, окрашенных железным гематоксилином. Данный метод применяется с

целью уточнения степени выраженности склеропластических процессов, оценить состояние стромальных элементов ткани и состояние стенок сосудов [24, 26].

Полученные срезы исследовали на световом микроскопе фирмы Axioscop 40 с окуляром x10, при увеличениях объектива x5; x40; x100. В процессе изучения гистологического образца проводили подробное описание его морфологического строения, на основании которого определяли структуру ткани зуба. Все полученные данные, включая микрофотографии, сохраняли на USB-флеш-накопителе и анализировали с использованием системы визуального анализа изображения с видеокамерой Infinity 1 (Infinity Capture и Infinity Analyse).

Также использовали морфометрический метод, позволяющий установить количественные параметры основных структурных единиц зубной ткани. Количественно оценивали толщину слоя эмали на поверхности зубов в 10 полях зрения при увеличении объектива x40, у образцов контрольной группы и после лечения гелем и ПЛ. Полученные данные сравнивали с параметрами контрольной группы, а также внутри каждой группы при помощи статистического метода исследования [24, 30].

2.3. Обработка результатов

Статистическую обработку результатов химических, технологических, фармакологических исследований проводили по методикам согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» и ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности ЛС биологическими методами» [30].

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ГЕЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ

3.1. Разработка состава геля для лечения кариеса эмали

3.1.1. Обоснование выбора компонентов геля для лечения кариеса эмали

Подбор оптимального соотношения активных компонентов в реминерализующих ЛФ является сложной задачей.

При выборе состава реминерализующих ЛФ необходимо знать химический состав, фазы реминерализации эмали и основные требования к реминерализующему средству, такие как: длительная ретенция на поверхности эмали; содержание ионов, способных проникать вглубь кристалла (Ca^{2+} , PO_4^{3-} , F^-) и при этом не образующих модификации апатитов, способствующих развитию дефектов эмали или нарушающих ход физико-химических и обменных процессов в тканях зуба; содержание минеральных веществ в ионизированном состоянии в концентрациях, превышающих их концентрации в гидратном слое; соотношение кальция и фосфора 4:1, что обеспечивает формирование апатитоподобных структур; низкая концентрация ионов фтора (0,1 мг/л), способствующая преципитации апатитов (высокая концентрация определяет образование нерастворимого фторида кальция) [16, 18].

Моделирование ЛФ необходимо осуществлять по кальциево-фосфорному коэффициенту в здоровой слюне 4:1. Высокая концентрация солей кальция и фосфора, превышающая концентрацию их в здоровой слюне, позволяет создать среду, обладающую во много раз большим реминерализующим потенциалом, чем нормальная слюна человека [18]. Эффективность аппликационных реминерализующих ЛФ зависит от длительности контакта с поверхностью эмали и от степени ее проницаемости. Максимального реминерализующего эффекта эмали можно достичь путем одновременного присутствия кальция, фосфата и фтора в ЛФ.

На основании анализа литературных данных и по рекомендациям врачей высшей категории кафедры стоматологии факультета повышения квалификации и

профессиональной переподготовки специалистов ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России в качестве активных компонентов выбраны следующие субстанции, значение которых в реминерализующей терапии подробно описано в гл. 1.2.:

- в качестве источника кальция: коммерчески доступный кальций абразивной системы — кальция хлорид, так как содержит высокое количество ионов кальция и легко их высвобождает, восполняя утраченные в процессе воздействия кислот ионы кальция гидроксиапатита эмали;

- в качестве источника фосфора: калия фосфат двузамещенный, что связано с наличием самостоятельного фосфат иона и его хорошей растворимостью, а дополнительное содержание калия снижает чувствительность, создавая на поверхности высокую концентрацию данного иона, что предотвращает возникновение и передачу болевого раздражения, так как раздражение нерва обусловлено нарушением баланса ионов натрия и калия, содержание фосфатов превалирует над кальцием в соотношении 4:1;

- в качестве источника фторид иона: натрия фторид, в концентрации рекомендуемой ВОЗ, как наиболее эффективное соединение для применения в профилактике кариеса, которое легко диссоциирует с выделением активного ионизированного фтора.

Соблюдение рекомендуемого режима лечения определяет эффективность терапии. Одним из факторов, определяющих приверженность пациентов к лечению являются органолептические показатели: комбинация вкусовых ощущений, запаха и консистенции. Наиболее распространенным методом изменения органолептических свойств является введение корригентов вкуса и запаха [8, 64].

Номенклатура корригентов вкуса и запаха, разрешенных для применения в фармации, достаточно широка. Для коррекции вкуса традиционно используются сахара природного и синтетического происхождения, по степени сладости, относительно сахарозы, интенсивные подсластители и сахарозаменители [53]. Однако введение легко ферментируемых углеводов (сахароза, мальтоза и др.)

противоречит основному терапевтическому эффекту ЛФ – лечению и профилактики кариеса эмали зуба. Поэтому выбору к включению в ЛФ подлежали некариесогенные подсластители, такие как маннит, сорбит и ксилит. Применение сорбита в составе жевательных резинок и средств гигиены полости рта профилактически менее эффективно, что связано со снижением рН в налете до уровня рН 5-5,7, что создает условия для развития кариеса. Маннит ферментируется микрофлорой полости рта в очень небольшом количестве, поэтому используется в качестве подсластителя при производстве зубных паст и ополаскивателей [51, 91, 95].

Наиболее исследованным некариесогенным подсластителем является ксилит - сахарозаменитель природного происхождения. Сладость ксилита в 2 раза превышает сладость сахара, он обладает приятным вкусом и создает охлаждающее ощущение во рту. В стоматологию ксилит вошел в 1970-х годах, что связано с увеличением скорости слюноотделения, снижением вязкости слюны, а также повышением продукции протеаз, вследствие чего снижается прикрепление микроорганизмов к пелликуле [55]. Противокариозные свойства ксилита определены в эксперименте на крысах, находящихся на крахмальной диете, при добавлении ксилита наблюдалась реминерализация эмали в зонах фиссурного кариеса [91]. Ксилит не ассимилируется большинством видов микроорганизмов и в отличие от сахаров, не включается в процессы гликолиза, не принимает участия в производстве кислот, в связи с этим не может служить питательным субстратом для бактерий зубного налета, нарушая энергетический обмен основного кариесогенного вида бактерий *Streptococcus mutans* [139, 171]. В клинических условиях полоскания с 10% раствором ксилита не вызывает изменений рН налета и не стимулирует его прирост. Применение жевательной резинки с ксилитом в течение беременности снижает риск ранней колонизации зубов ребенка *Streptococcus mutans* [91]. Продукты с ксилитом не подвергаются микробиологическому разложению, что обеспечивает стабильность геля и ПЛ при хранении по показателю «Микробиологическая чистота». Введение ксилита в состав жевательных резинок, приводит к селекции штаммов стрептококков, не

способных к синтезу глюкоана и фруктана, т.е. с ограниченным потенциалом для колонизации [43, 51, 133, 154, 178]. Поэтому для коррекции вкуса в геле и ПЛ использовали ксилит.

К применению в фармации разрешены синтетические (этилванилин, анетол, бензальдегид, тимол и др.) и натуральные ароматизаторы в форме порошков, масел или настоек (апельсиновое, анисовое, розовое масло, настойка кожуры апельсина красного и др.) [8]. Натуральные ароматические добавки более безопасны и проявляют дополнительное терапевтическое действие, поэтому выбор осуществлялся среди натуральных эфирных масел. Традиционно местные стоматологические ЛФ (пасты, гели, ополаскиватели, капли и пр.) имеют мятный аромат, что достигается использованием эфирного масла мяты перечной. Эфирное масло мяты перечной оказывает легкое местноанестезирующее и освежающее действие за счет высокого содержания ментола [83]. Масло мяты обладает противовоспалительным, антибактериальным и фунгицидным действием, благодаря которому обеспечивает благотворное влияние на ткани пародонта и слизистую оболочку полости рта при их воспалении, а также снижает образование зубных отложений. Розовое эфирное масло, масло чайного дерева, эфирное масло шалфея издавна применяются в стоматологической практике для лечения пародонтоза, стоматитов и гингивитов за счет противовоспалительного и бактерицидного действия, что также способствует освобождению зубов от бактериальных инфекций [74, 105, 109, 113, 168]. Однако, отличительной особенностью эфирного масла мяты является его освежающее послевкусие. Комбинация терапевтических эффектов и органолептических показателей (ярко выраженный освежающий вкус и запах) делает эфирное масло мяты хорошим дополнением к составу реминерализующих препаратов, поэтому в качестве отдушки в геле и ПЛ для лечения кариеса эмали выбрано эфирное масло мяты перечной.

Помимо ЛС, важнейшим компонентом стоматологических ЛФ является гелеобразующая основа. Она является активным носителем ЛС и должна соответствовать общим требованиям, предъявляемым к наружным

стоматологическим ЛФ: химическая совместимость с ЛС, быстрое и полное высвобождение ЛС, низкая токсичность на организм, сохранность ЛС и основных показателей качества на протяжении всего срока хранения, она не должна смываться слюнной жидкостью, должна равномерно распределяться по слизистой, способствовать полному высвобождению ЛС и не вызывать местно-раздражающего и аллергизирующего действия [107].

Наиболее подходящими для изготовления стоматологических ЛФ являются гидрофильные гелеобразователи. Они характеризуются высокой мукоадгезивностью – способностью удерживаться на слизистой оболочке и содействуют локализации фармакологического эффекта. Гидрофильные гелеобразователи легко инкорпорируют в себя большое количество ЛС и способствуют их полному и равномерному высвобождению, дают возможность в необходимом диапазоне регулировать биофармацевтические и структурно-механические свойства стоматологических гелей. К числу гидрофильных гелеобразователей относятся водные растворы таких полимеров как натрий - КМЦ, МЦ, гидроксипропилцеллюлоза, карбопол, альгинат натрия. рН гелеобразования вышеуказанных основ лежит в нейтральной области, что комфортно для использования в ротовой полости. Оптимальную концентрацию этих растворов определяют путем исследования реологических свойств геля. Важным свойством основ является способность образовывать с секретами слизистых гомогенные смеси, что способствует лучшему контакту ЛС с пораженным участком [108].

Приоритет при выборе основ был направлен на образцы отечественного производства. По анализу литературных данных, рекомендациям стоматологов и как наиболее часто используемые в составе стоматологических гелей, в качестве основ для изучения выбраны водорастворимые производные целлюлозы: МЦ, натрий - КМЦ и природный полисахарид - натрий альгинат, характеризующиеся биоинертностью, высокой чистотой и доступностью, в концентрации от 3 до 6 % пластифицированные глицерином в концентрации от 10 до 20%, образующие прозрачные устойчивые в широком диапазоне рН гели без

вкуса и запаха. МЦ, натрий - КМЦ и натрия альгинат разрешены к применению в фармацевтической и косметологической промышленности [2, 12, 57, 75, 81, 92, 106, 107, 108, 134, 148, 150, 162, 164].

Водные растворы МЦ, натрий - КМЦ и альгината натрия обладают псевдопластичными свойствами и низкой поверхностной активностью, адгезионной способностью, стабилизирующее действие их обусловлено механической прочностью. Высокая способность связывать воду обеспечивает структурированное пространство их водных растворов, что позволяет включать в нее вещества, нестойкие или несовместимые в водных растворах. Обладают быстрой растворимостью в воде, хорошими осмотическими свойствами, способствуют полноте высвобождения ЛС и как следствие без усилий наносятся на СОПР, быстро разжижаются, растворяются, смешиваются со слюной и обуславливают полную отдачу ЛС, т.е. обеспечивать необходимый комплекс требований, предъявляемы к этой ЛФ. Не обладают токсично – раздражающим действием и кумулятивной способностью, отсутствует канцерогенное воздействие, физиологически инертны [35, 81, 108].

Введение пластификатора обеспечивает создание оптимальной пластичности и адгезивности, которые необходимы при применении геля. Исходя из анализа литературных данных оптимальной комбинацией является пластификация водных растворов МЦ и натрий - КМЦ глицерином. Глицерин увеличивает пластичность и текучесть полимера за счет диффузии в полимер, раздвигая его макромолекулы, окружает их мономолекулярным слоем и экранирует полимерные группы. Взаимодействие между звеньями различных макромолекул заменяется взаимодействием их с молекулами пластификатора, в результате возникновения такого промежуточного слоя прекращается соприкосновение между молекулами полимера, и они легче передвигаются относительно друг друга. Введение глицерина увеличивает способность основ поглощать жидкость, что увеличивает их активность и продолжительность осмотического действия [3, 81, 108].

В качестве основ изучено 45 композиционных составов, представленных в таблице 2.

Таблица 2 - Составы гидрофильных основ геля для лечения кариеса эмали

№ основы	Натрий-КМЦ	МЦ	Натрия-альгинат	Глицерин	Вода очищенная
1	3,0	-	-	10,0	до 100 мл
2	3,5	-	-	10,0	до 100 мл
3	4,0	-	-	10,0	до 100 мл
4	4,5	-	-	10,0	до 100 мл
5	5,0	-	-	10,0	до 100 мл
6	3,0	-	-	15,0	до 100 мл
7	3,5	-	-	15,0	до 100 мл
8	4,0	-	-	15,0	до 100 мл
9	4,5	-	-	15,0	до 100 мл
10	5,0	-	-	15,0	до 100 мл
11	3,0	-	-	20,0	до 100 мл
12	3,5	-	-	20,0	до 100 мл
13	4,0	-	-	20,0	до 100 мл
14	4,5	-	-	20,0	до 100 мл
15	5,0	-	-	20,0	до 100 мл
16	-	3,0	-	10,0	до 100 мл
17	-	3,5	-	10,0	до 100 мл
18	-	4,0	-	10,0	до 100 мл
19	-	4,5	-	10,0	до 100 мл
20	-	5,0	-	10,0	до 100 мл
21	-	6,0	-	10,0	до 100 мл
22	-	3,0	-	15,0	до 100 мл
23	-	3,5	-	15,0	до 100 мл
24	-	4,0	-	15,0	до 100 мл

25	-	4,5	-	15,0	до 100 мл
26	-	5,0	-	15,0	до 100 мл
27	-	6,0	-	15,0	до 100 мл
28	-	3,0	-	20,0	до 100 мл
29	-	3,5	-	20,0	до 100 мл
30	-	4,0	-	20,0	до 100 мл
31	-	4,5	-	20,0	до 100 мл
32	-	5,0	-	20,0	до 100 мл
33	-	6,0	-	20,0	до 100 мл
34	-	-	3,0	10,0	до 100 мл
35	-	-	4,0	10,0	до 100 мл
36	-	-	5,0	10,0	до 100 мл
37	-	-	6,0	10,0	до 100 мл
38	-	-	3,0	15,0	до 100 мл
39	-	-	4,0	15,0	до 100 мл
40	-	-	5,0	15,0	до 100 мл
41	-	-	6,0	15,0	до 100 мл
42	-	-	3,0	20,0	до 100 мл
43	-	-	4,0	20,0	до 100 мл
44	-	-	5,0	20,0	до 100 мл
45	-	-	6,0	20,0	до 100 мл

Вышеуказанные составы оценивали по органолептическим показателям (однородность, отсутствие расслоения и комкования). В ходе эксперимента выявлено, что при получении геля на основе натрия-альгината наблюдалось расслоение, комкование и кристаллизация ЛС. Гели на основе МЦ и натрий - КМЦ оставались однородными, имели хорошую консистенцию и внешний вид. Гели с концентрацией глицерина 20%, гели на МЦ с концентрацией глицерина

15%, гели с концентрацией 3% МЦ и 3% натрий-КМЦ также имели жидкую консистенцию, обладали излишней текучестью.

Гели на МЦ и натрий-КМЦ с концентрацией от 5 до 6% обладали плотной структурой, что затрудняло гомогенизацию геля и способствовало комкованию, так как вследствие увеличения концентрации гелеобразователя повышается прочность структуры и увеличивается вязкость.

По предварительным органолептическим показателям отобрано 11 композиций гидрофильного характера, представленных в таблице 3.

Таблица 3 - Составы выбранных гидрофильных основ геля для лечения кариеса эмали

№ состава	Натрий-КМЦ	МЦ	Глицерин	Вода очищенная
1	3,5	-	10,0	до 100 мл
2	4,0	-	10,0	до 100 мл
3	4,5	-	10,0	до 100 мл
4	3,5	-	15,0	до 100 мл
5	4,0	-	15,0	до 100 мл
6	4,5	-	15,0	до 100 мл
7	3,5	-	20,0	до 100 мл
8	-	3,5	10,0	до 100 мл
9	-	4,0	10,0	до 100 мл
10	-	4,5	10,0	до 100 мл
11	-	4,5	15,0	до 100 мл

Оценку выбранных составов проводили, исследуя реологические характеристики, позволяющие моделировать технологические свойства, экструзионную способность и удобство нанесения геля. Исследования реологических показателей проводили под руководством доцента каф. общей и органической химии ПГФА Рюминой Т.Е. Структурно механические характеристики оказывают значительное влияние на процессы высвобождения, всасывания ЛС и на их потребительские свойства: намазываемость, адгезию и

способность выдавливания из туб. Исследования реологических свойств по методике описанной в гл. 2.2.3. проводили на ротационном вискозиметре «Rheotest 2.1» (Германия) с коаксиальными цилиндрами при температуре $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ при которой моделируется намазывание гелей. Для оценки консистенции геля строили реограммы течения в диапазонах скоростей сдвига $0,556 - 243 \text{ c}^{-1}$. Для каждой скорости сдвига рассчитывали величину напряжения сдвига и по полученным данным строили реограммы течения, которые сопоставляли с графическим отображением реологического оптимума намазываемости, при котором моделируется намазываемость гидрофильных основ. Реограммы течения для выбранных основ представлены на рисунке 1. Исходя из представленных реограмм установлено, что в реологические оптимумы АБ и ВГ вошли составы основ № 2 и № 9.

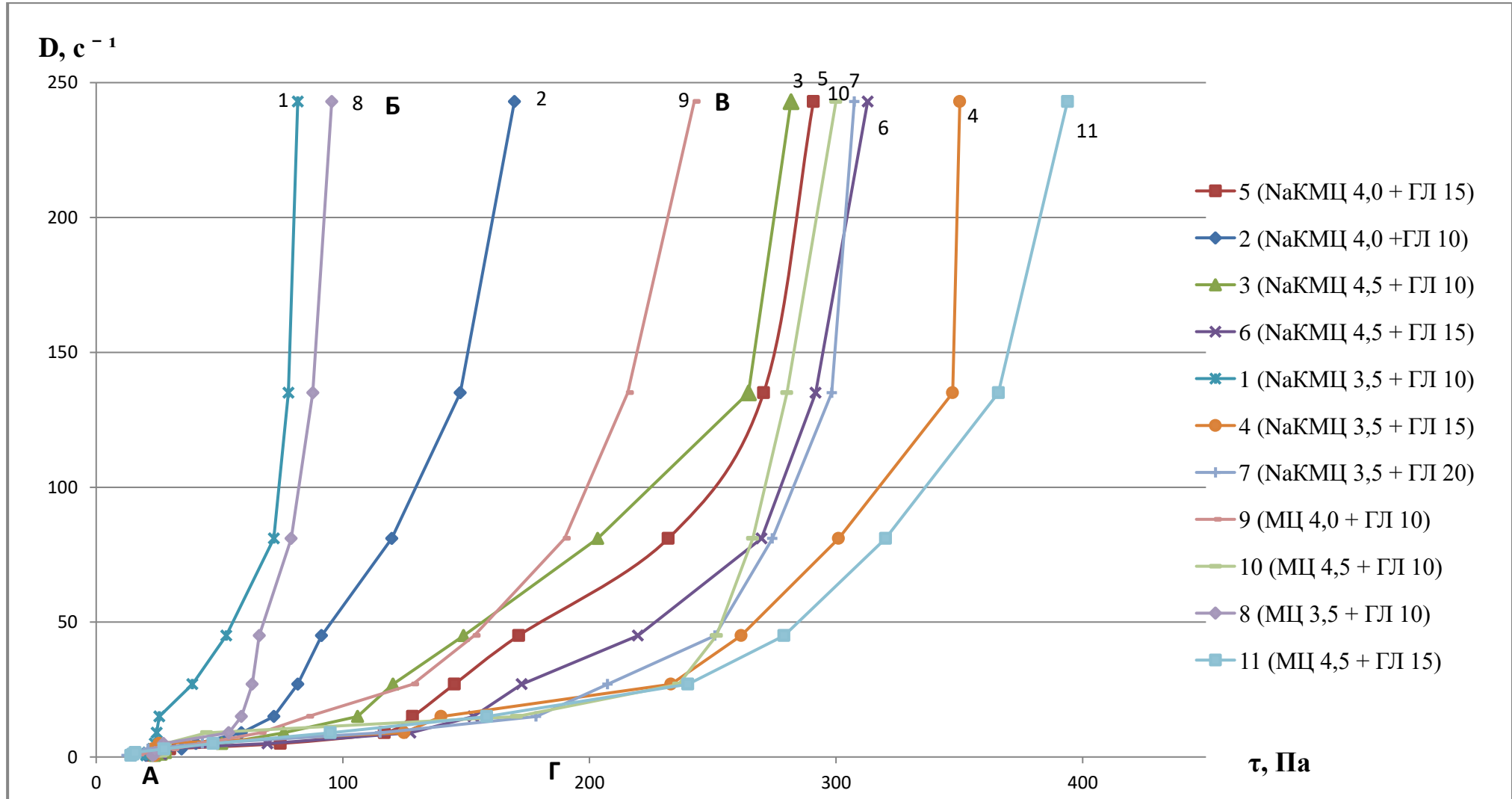


Рисунок 1 - Реограммы течения гелей для лечения кариеса эмали на гидрофильных основах

Результаты исследования касательного напряжения сдвига и эффективной вязкости отобранных образцов представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Реологические параметры гелей для лечения кариеса эмали при температуре $(37\pm 2)^\circ\text{C}$

Скорость сдвига, c^{-1}	Состав 2		Состав 9	
	Касательное напряжение, Па	Эффективная вязкость, Па*с	Касательное напряжение, Па	Эффективная вязкость, Па*с
0,556	20,21	36,35	12,30	22,12
1	23,72	23,72	17,06	17,06
1,667	23,72	14,23	21,94	13,16
3	34,60	11,53	31,09	10,37
5	40,419	8,08	43,06	8,62
9	58,87	6,54	66,50	7,39
15	72,05	4,80	85,83	5,726
27	81,716	3,03	128,36	4,76
45	91,38	2,03	153,31	3,40
81	119,83	1,48	189,88	2,34
135	147,62	1,09	215,48	1,59
243	169,58	0,69	242,512	0,99

Исходя из данных представленных в таблице 4, вязкость гелей падает с увеличением скорости сдвига, особенно резко при малых скоростях, в то время как касательное напряжение сдвига увеличивается. Такая зависимость характеризует наличие структуры в геле, следовательно, процесс пластического формирования будет более эффективен в областях сдвига, приводящих к наибольшему разрушениям системы.

По рассчитанным значениям эффективной вязкости гелей строили графические зависимости вязкости от скорости сдвига в логарифмических

координатах, представленных на рисунке 2. Зависимость $\ln \eta$ от $\ln D$ прямо пропорциональны и характеризуют исследуемые системы как структурированные дисперсные системы, следовательно, гели обладают аномальной вязкостью, что подтверждает функциональная зависимость значений вязкости от скорости сдвига.

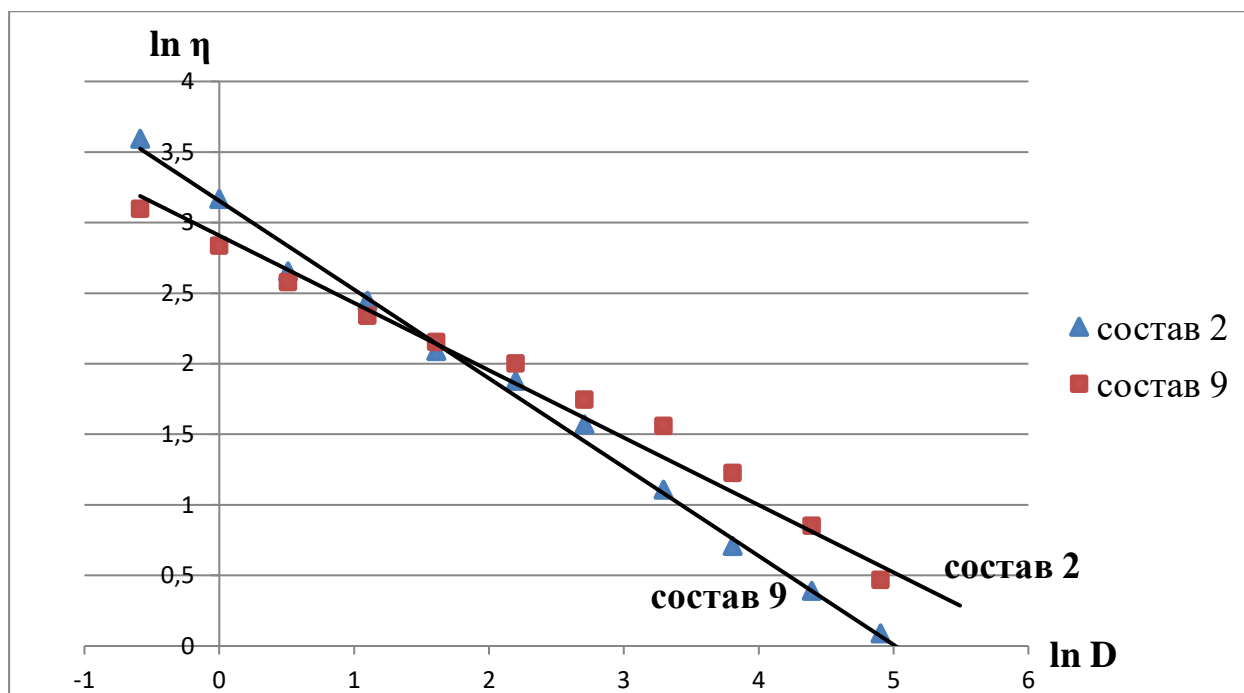


Рисунок 2 - Зависимость вязкости от скоростей сдвига гелей для лечения кариеса эмали

Для изучения тиксотропных свойств строили кривые кинетики деформации геля в координатах скорость сдвига от напряжения сдвига в области изменения от малых к большим и от больших к малым, представленных на рисунке 3. Полученные кривые показывают значительность «петель гетерезиса». Наличие восходящих и нисходящих кривых указывают на то, что исследуемые гели обладают тиксотропными свойствами, что характеризует хорошую намазываемость и способность выдавливаться из туб. Ширина петель гетерезиса служит относительной оценкой степени структурообразовательных процессов в гелях.

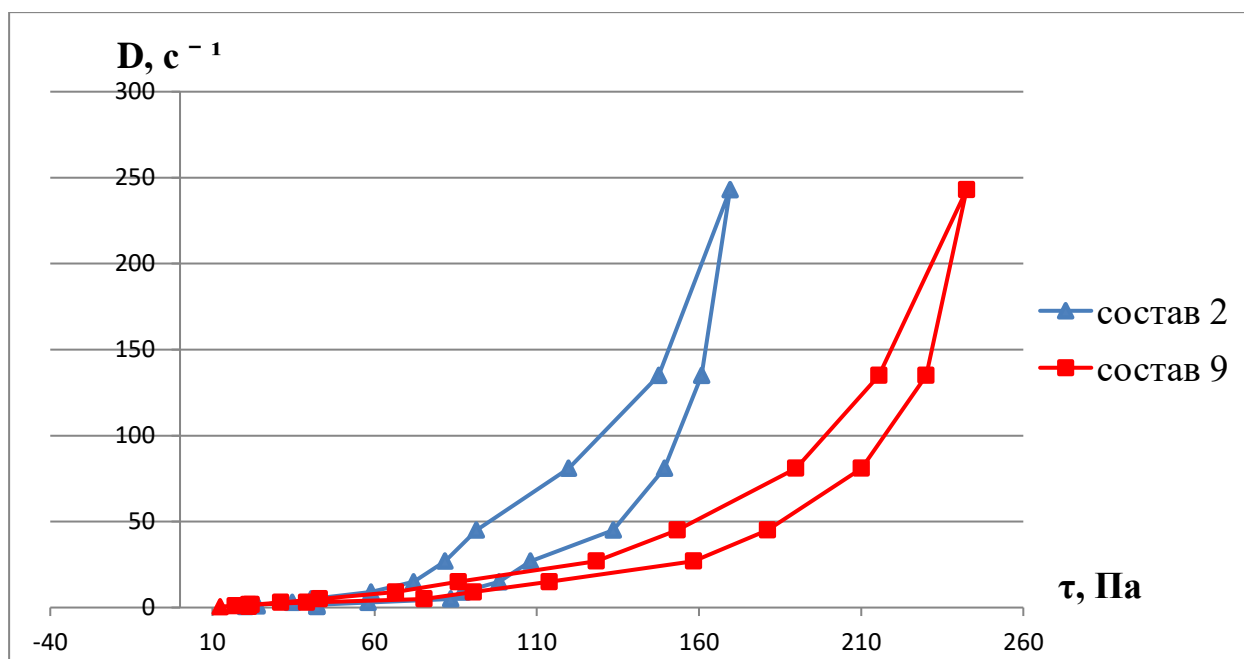


Рисунок 3 - Реограммы течения гелей для лечения кариеса эмали

Проведенные исследования реологических свойств гелей для лечения кариеса эмали на композиционных составах № 2 и № 9 свидетельствуют о их хорошей способности к выдавливаю из туб и равномерном распределении при нанесении.

3.1.2. Биофармацевтические исследования геля для лечения кариеса эмали

При создании эффективных ЛФ, отвечающих современным медико-фармацевтическим требованиям, определяющую роль играют закономерности высвобождения и биологической доступности активных компонентов. Выбор оптимального состава геля для лечения кариеса эмали, обеспечивающего лучшую степень высвобождения из композиции № 2 на основе натрий-КМЦ и №9 на основе МЦ, проводили диализным методом с кондуктометрическим контролем, описанном в гл. 2.2.4.

Результаты определений по изучению процесса высвобождения ЛС из геля для лечения кариеса эмали состава №2 и №9 представлены на рисунке 4.

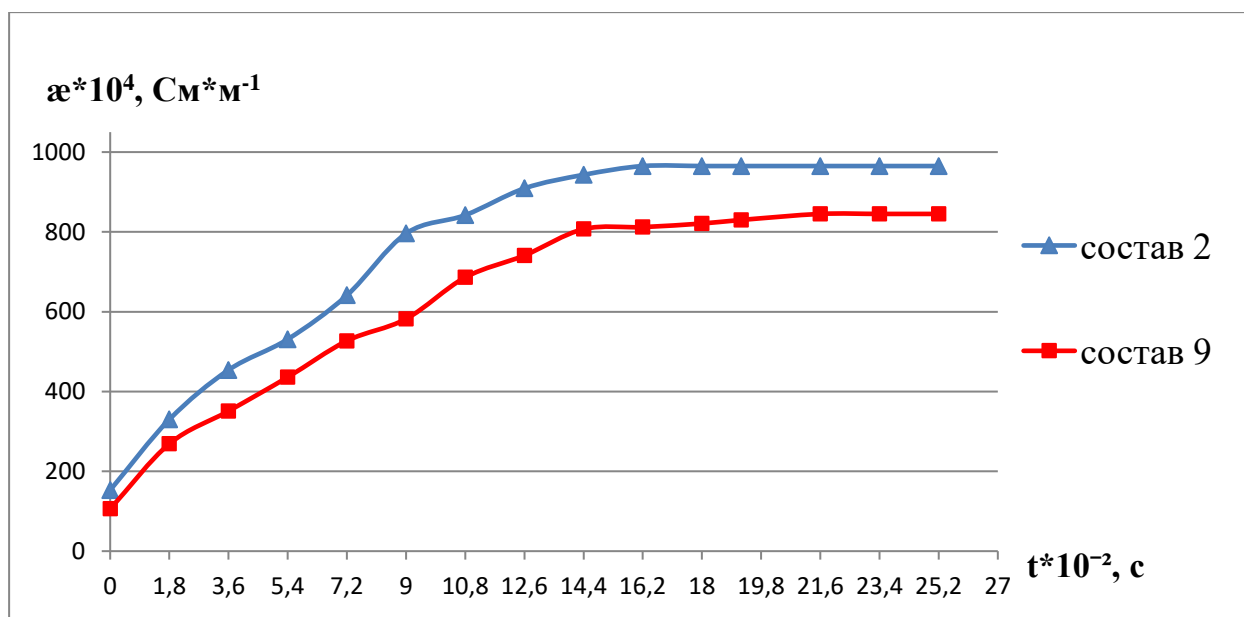


Рисунок 4 - Кинетика высвобождения активных компонентов из гелей для лечения кариеса эмали разного состава, метод диализа с кондуктометрическим контролем

С увеличением времени растворения увеличивается количество высвобождаемых ионов, что выражается увеличением удельной электропроводимости. Средняя скорость растворения составила для состава №2 – $4,1 \cdot 10^{-3}$ г/л \cdot с и для состава №9 $3,7 \cdot 10^{-3}$ г/л \cdot с. Анализ данных, представленных на рисунке 4, свидетельствуют о том, что максимальное высвобождение активных компонентов из полимерной матрицы на натрий-КМЦ наблюдаются на 27 минуте, максимальное высвобождение активных компонентов из полимерной матрицы на МЦ наблюдается на 36 минуте. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что композиция состава №2 высвобождает ЛС быстрее по сравнению с составом №9, который действует более пролонгировано, поэтому на основании полученных результатов дальнейшие исследования проводились на композиции состава №2.

Изучение кинетических закономерностей высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса

Исследование кинетики высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса эмали проводили методом кондуктометрии, описанном в гл. 2.2.4. Использовали кондуктометрический метод, как более информативный, чем

метод диализа и позволяющий изучить влияние на процесс релиза многочисленных факторов.

Из графика, представленного на рисунке 5 видно, что максимальное высвобождение основных действующих компонентов происходит на 15-20 минуте, это определяет оптимальную продолжительность аппликации геля 15-20 минут.

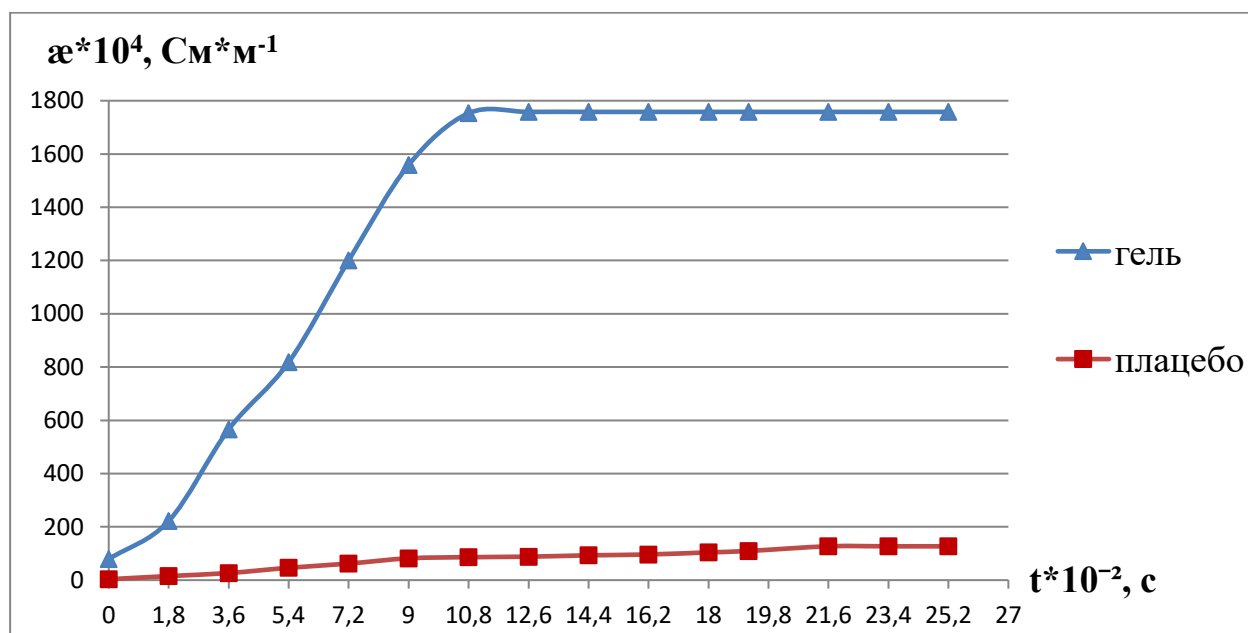


Рисунок 5 - Кинетика высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса эмали и геля плацебо, метод растворения

Графически на рисунке 6 определены константы растворения геля и плацебо, как тангенс угла наклона к положительному направлению оси абсцисс. Значения констант растворения составили: $k_{\text{раств.геля}}(\text{метод диализа})=2,03 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств.плацебо}}(\text{метод диализа})=1,20 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств.геля}}(\text{метод растворения})=2,41 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств.плацебо}}(\text{метод растворения})=1,85 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$. Константы растворения геля больше в сравнении с плацебо, что объясняется ослаблением межмолекулярных связей при введении в гель активных компонентов.

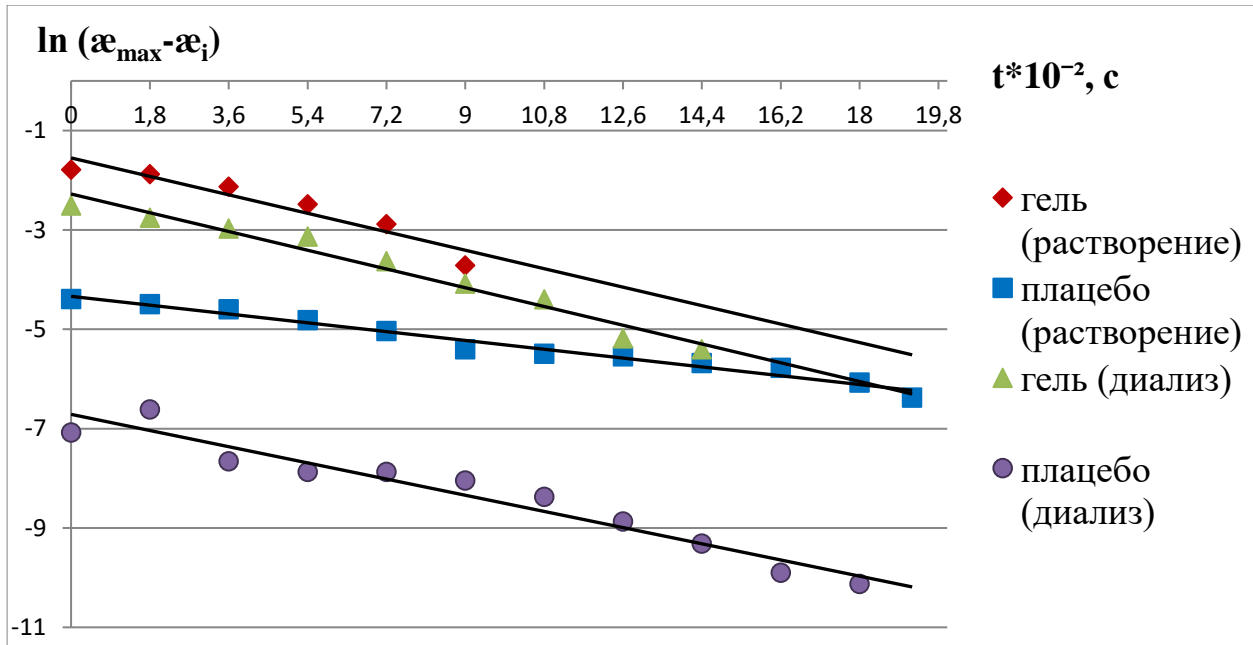


Рисунок 6 - Зависимость $\ln(a_{\max} - a_i)$ от времени

Для управления процессом динамики высвобождения активных компонентов из геля изучали влияние внешних факторов на кинетику высвобождения, таких как температура, объем растворителя и перемешивание.

Результаты исследования влияния температуры на скорость растворения представлены на рисунке 7.

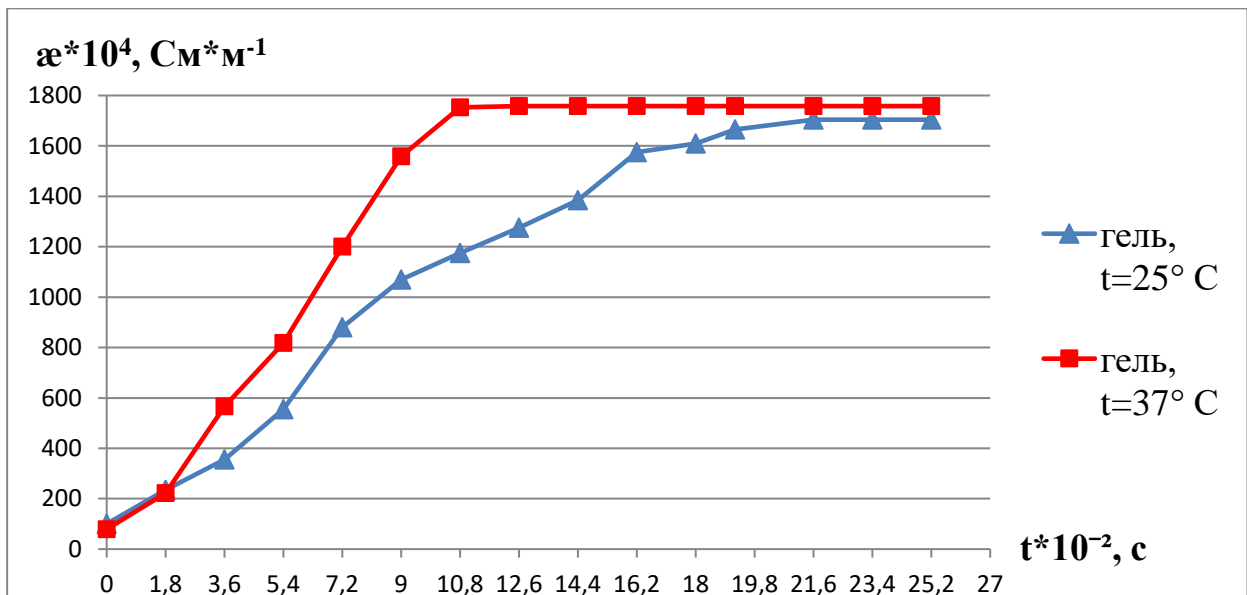


Рисунок 7 – Кинетика высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса в зависимости от температуры, $V=100$ мл (метод растворения)

Установлено, что увеличение температуры с $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ до $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$ приводит к увеличению средней скорости растворения, что также свидетельствует о диффузионном механизме высвобождения активных компонентов.

Результаты исследования влияния объема растворителя на скорость растворения представлены на рисунке 8.

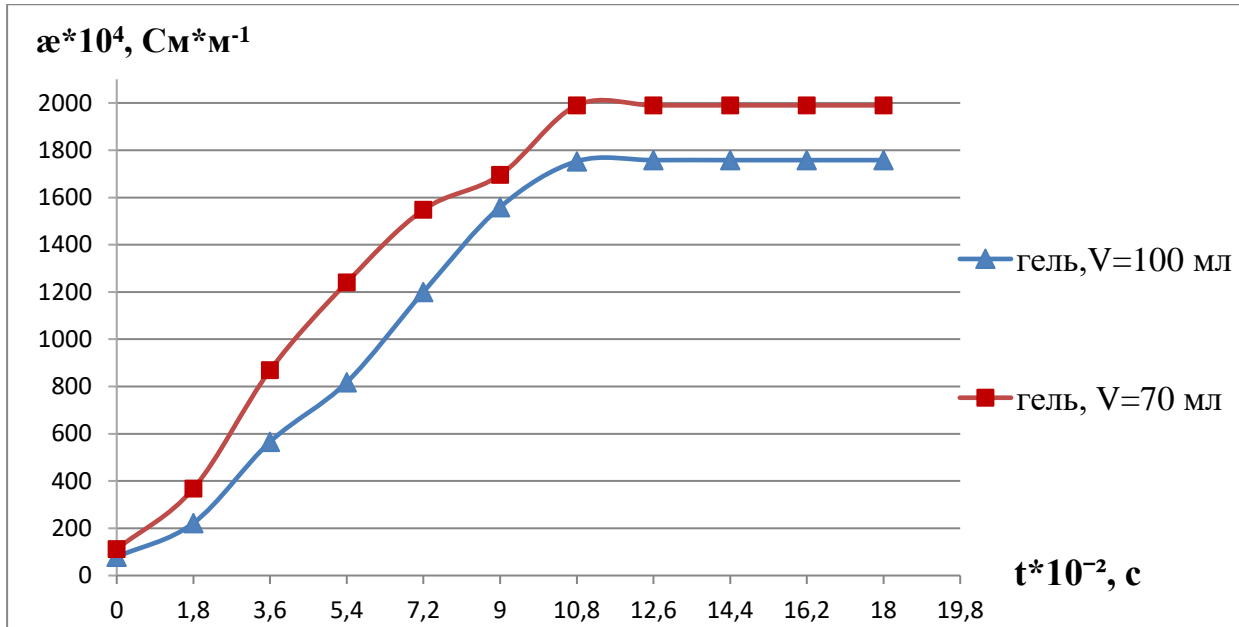


Рисунок 8 - Кинетические кривые высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса эмали в зависимости от объема растворителя (метод растворения), $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$

Анализ данных представленных на рисунке 8 свидетельствует, что объем растворителя в выбранных условиях проведения эксперимента не влияет на высвобождение активных компонентов.

Скорость гетерогенных процессов сильно зависит от перемешивания, так как при этом выравниваются концентрации в большей части объема. При перемешивании скорость высвобождения ионов значительно выше, чем без перемешивания, результаты исследования влияния перемешивания на скорость растворения представлены на рисунке 9.

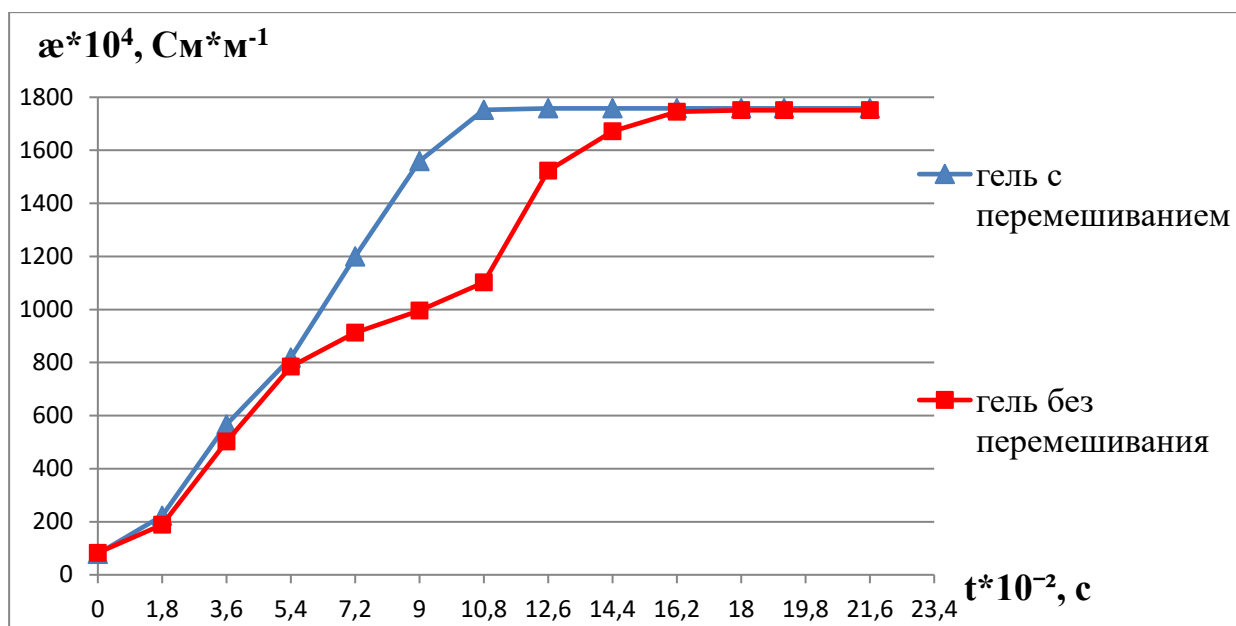


Рисунок 9 – Кинетика высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса эмали в зависимости от перемешивания, $V=100$ мл (метод растворения), $(37 \pm 2)^{\circ}\text{C}$

На основании анализа литературных данных и проведенных технологических, реологических, биофармацевтических исследований, разработан состав геля для лечения кариеса эмали с учетом основных требований реминерализующей терапии, обеспечивающих полное высвобождения действующих веществ.

3.2. Разработка технологии геля для лечения кариеса эмали

Качество, стабильность в процессе хранения и терапевтическую эффективность ЛФ во многом определяет технологический процесс изготовления, который представляет собой рациональную спланированную систему взаимосвязанных процессов, в котором обоснованию подлежит каждая технологическая операция.

В предварительных испытаниях разработана технология изготовления геля для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций, технология апробирована в условиях производственной аптеки МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России г. Перми (приложение 2).

Технологическая схема изготовления геля соответствует традиционным подходам, но имеет особенности на технологической операции ТП 3. Изготовление геля. На этой стадии необходимо соблюдать последовательность, скорость введения компонентов, скорость перемешивания и интервал гомогенизации.

Изготовление геля в условиях аптечных организаций проводили в соответствии с требованиями санитарного режима, регламентированного нормативной документацией [89]:

Технологическая схема изготовления геля для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций включает следующие стадии:

ВР 1. Санитарная подготовка производства: подготовка оборудования, помещения, персонала и вспомогательного материала, осуществляемая в соответствии с Приказом № 309 от 21.10.1997 «Об утверждении инструкций по санитарному режиму аптечных организаций». Мерная тара и весоизмерительные приборы должны быть проверены соответствующим образом в территориальном государственном центре стандартизации, метрологии, сертификации.

ВР 2. Подготовительные работы: включают в себя отвешивание активных компонентов, корригентов, гелеобразователя и пластификатора, изготовление концентрированных растворов активных компонентов.

2.1.1. Изготовление калия фосфата двузамещенного раствора 25%: в 100 мл воды очищенной (точный объем) растворяют 25,0 г калия фосфата двузамещенного, отвешенного на весах с точностью до 0,01 г, перемешивают до полного растворения. Концентрацию раствора определяют ацидиметрическим методом.

2.1.2. Изготовление кальция хлорида раствора 55%: в мерную колбу вместимостью 100 мл отмеривают воду очищенную в количестве 80 - 90 мл, добавляют необходимое количество кальция хлорида (примерно 55,0 г), перемешивают и при необходимости доводят водой очищенной до метки. Концентрацию раствора определяют комплексонометрическим методом, при необходимости, полученный раствор укрепляют или разбавляют.

2.1.3 Изготовление натрия фторида раствора 2%: отвешивают 2,0 г натрия фторида на весах с точностью до 0,010 г и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем до метки водой очищенной и тщательно перемешивают. Определяют концентрацию раствора методом фотоэлектроколориметрии относительно РСО.

2.1.4. Изготовление раствора ксилита. В 10,5 мл воды очищенной при перемешивании растворяют 0,2 г ксилита, отвешенного на весах с точностью до 0,01 г.

2.1.5 Отвешивание гелеобразователя, пластификатора: отвешивают 4,0 г гелеобразователя (натрий-КМЦ) на весах с точностью до 0,01 г и 10,0 г глицерина.

ТП 3. Изготовление геля: 53,3 мл калия фосфата двузамещенного раствора 25% нагревают до температуры 50°-60°С. Нагретый раствор выливают в емкость для изготовления геля, включают мешалку якорного типа и при перемешивании добавляют небольшими порциями гелеобразователь, ровно распределяя его по поверхности во избежание образования комков. Полученный раствор гомогенизируют до исчезновения комочков, добавляют 10,5 мл раствора ксилита, после чего вводят остальные растворы активных компонентов медленно по каплям со скоростью 2-3 мл/мин с интервалом 10 минут при непрерывном перемешивании со скоростью 90-100 об/мин: 13,9 мл кальция хлорида раствора 55%, 10 мл натрия фторида раствора 2%. После 10 мин гомогенизации в гель вводят 10,0 г глицерина с учетом плотности и 4 капли эфирного масла мяты перечной. Гомогенизируют 10 минут. Деаэрацию геля для устранения излишней завоздушенности массы проводят путем отстаивания в течении 2 часов с периодическим перемешиванием.

УМО 4. Фасовка и упаковка готовой продукции.

Гель дозирующим устройством или вручную фасуют в тубы алюминиевые с лаковым покрытием массой 30,0 или 50,0 г, завальцовывают конец туб противоположный горлышку двойным загибом, и наносят штамп с номером партии и датой изготовления и оформляют к отпуску в соответствии с приказом

МЗ РФ №751н "Об утверждении правил изготовления и отпуска ЛП для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность». В процессе работы периодически проводят контроль объема туб. Во время проведения операции проводится визуальный контроль чистоты, качества и герметичности упаковки. Отбракованные тубы и крышки утилизируют.

Контроль качества осуществляется также в соответствии с приказом МЗ РФ №751н [88].

Гель подлежит обязательному письменному, органолептическому и контролю при отпуске.

1. Письменный контроль заключается в проверке правильности заполнения паспорта письменного контроля, в котором должны быть указаны:

- а) дата изготовления ЛП;
- б) номер рецепта или требования;
- в) наименование медицинской организации, название отделения (при наличии); номер серии;
- г) наименования взятых ЛС в и их количества, число доз, подписи лиц, изготовившего, расфасовавшего и проверившего ЛФ.

Паспорт письменного контроля заполняется сразу после изготовления ЛП, с указанием ЛС на латинском языке, в соответствии с последовательностью технологических операций. Паспорта письменного контроля хранятся в течение двух месяцев со дня изготовления лекарственных препаратов. Контроль заключается в проверке соответствия записей в паспорте письменного контроля назначениям в рецепте или требовании, правильности произведенных расчетов.

2. Органолептический контроль является обязательным видом контроля и заключается в проверке ЛП по внешнему виду, запаху, однородности смешивания. Однородность проверяется выборочно у каждого фармацевта (провизора) в течение рабочего дня с учетом всех видов изготовленных ЛФ.

3. Контролю при отпуске ЛП подвергаются все изготовленные ЛП, в рамках которого проверяется соответствие:

а) упаковки ЛП физико-химическим свойствам, входящих в него лекарственных средств;

б) указанных в рецепте или требовании доз наркотических средств, психотропных, сильнодействующих веществ возрасту пациента;

в) реквизитов рецепта, требования сведениям, указанным на упаковке изготовленного лекарственного препарата;

г) маркировки ЛП.

4. Физический контроль заключается в проверке общей массы ЛП, количества и массы отдельных доз (не менее трех доз), входящих в ЛП (предельные отклонения геля не должны превышать при массе от 20,0 до 50,0 г $\pm 5\%$).

5. Химический контроль. Качественному анализу подвергаются выборочно ЛП различных лекарственных форм, изготовленные фармацевтом (провизором) в течение рабочего дня, но не менее 10% от общего количества изготовленных каждым фармацевтом ЛП. Качественному и количественному анализу (полный химический контроль) подвергаются в обязательном порядке ЛФ, изготовленные по рецептам и требованиям, в количестве не менее трех лекарственных форм при работе в одну смену с учетом различных видов ЛФ.

6. Опросный контроль осуществляется выборочно и проводится после изготовления фармацевтом (провизором) не более пяти ЛФ.

При выявлении одного из указанных несоответствий изготовленный ЛП не подлежит отпуску.

Разработана технология изготовления геля для лечения кариеса эмали в промышленных условиях. Технология производства геля для лечения кариеса эмали включает стадии и операции, представленные на рисунке 10. Нарработку опытных образцов проводили на производственной базе предприятия ОАО «Пермфармация» (приложение 8). Разработан опытно-промышленный регламент на производство геля для лечения кариеса эмали, утверждённый ОАО «Пермфармация» (приложение 7).

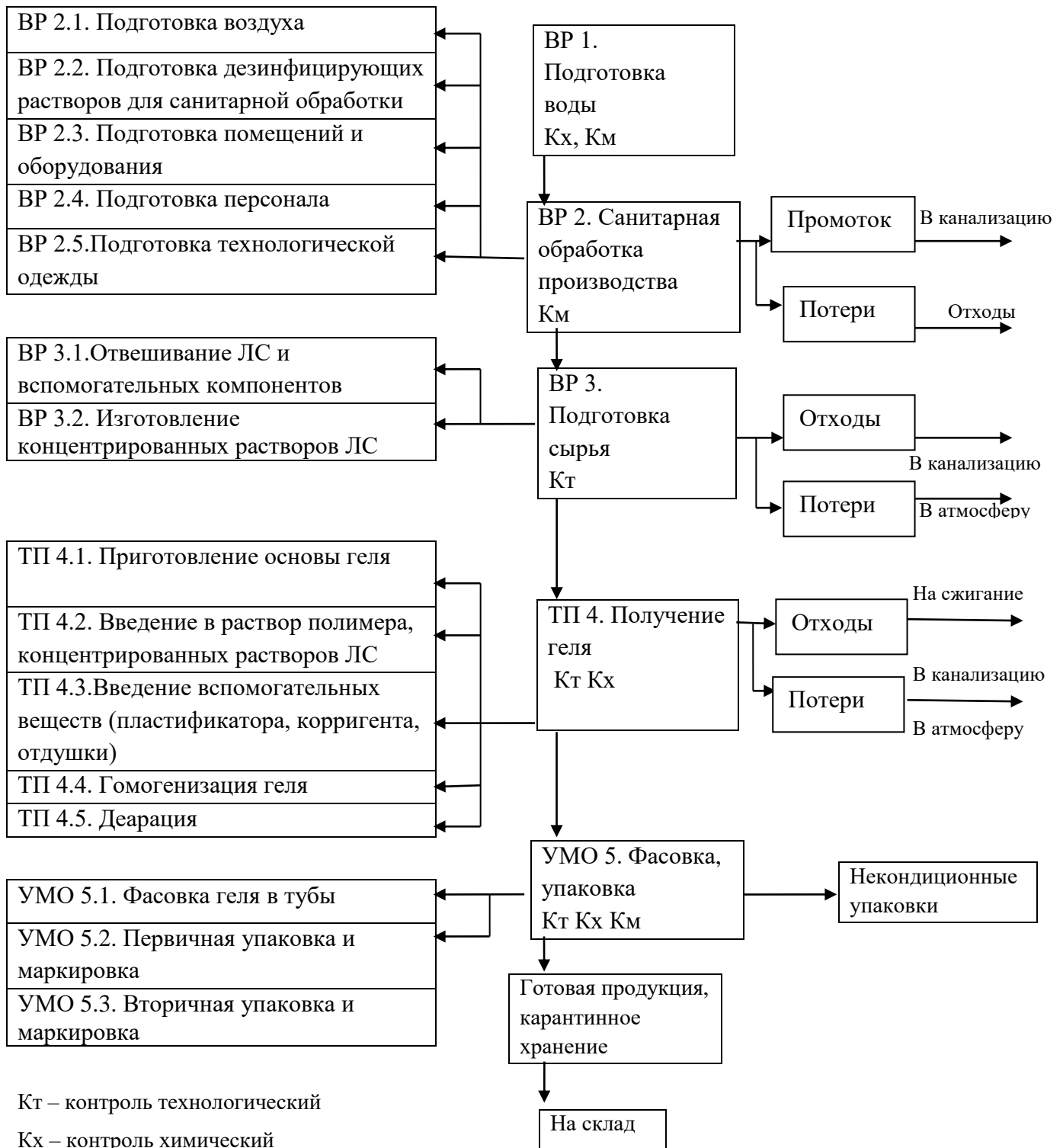


Рисунок 10 - Технологическая схема производства геля для лечения кариеса эмали

Технологическая схема производства геля для лечения кариеса эмали включает следующие стадии:

ВР 1. Подготовка воды очищенной.

ВР 2. Санитарная подготовка производства. Производство геля на промышленном предприятии осуществляется в соответствии с правилами GMP и включает стадии вспомогательных работ, в которые входят подготовка воздуха, помещений, оборудования, персонала.

ВР 3. Подготовка сырья включают в себя отвешивание активных компонентов, корригентов, гелеобразователя и пластификатора. На товарные весы ставят тарированную емкость, в которую из тары поставщика загружают рецептурное количество гелеобразователя натрий-КМЦ. Рецептурные количества концентрированных растворов ЛС и корригента при помощи мерной тары дозируют в промежуточные емкости. Рецептурные количества пластификатора глицерина также дозируют в промежуточные емкости с учетом плотности. Отмеренные и отвешенные порции сырья перевозят тележкой или переносят вручную для загрузки в реактор – смеситель. Мерная тара и весоизмерительные приборы должны быть проверены соответствующим образом в территориальном государственном центре стандартизации, метрологии, сертификации

ТП 4. Получение геля. Растворение гелеобразователя (натрий-КМЦ) в 25% растворе калия фосфата двузамещенного проводят в реакторе-смесителе (эмалированном или из нержавеющей стали), снабженным якорной мешалкой (до 100 об/мин) и обогревом. В реактор-смеситель из промежуточной емкости вносят отмеренное количество калия фосфата двузамещенного раствора 25%. Содержимое реактора нагревают до температуры 50–60°C и включают мешалку. Затем в реактор-смеситель по частям вносят из промежуточной емкости отвешенное количество натрий-КМЦ, перемешивают содержимое до образования системы с однородной гелеобразной консистенцией. Затем в реактор-смеситель из промежуточных емкостей медленно со скоростью 2-3 мл/мин, при постоянном перемешивании с интервалом 20 минут последовательно вносят отмеренные количества раствора ксилита, кальция хлорида раствора 55% и натрия фторида раствора 2%. Перемешивают до однородности. К полученному гелю добавляют из промежуточной емкости при перемешивании отмеренное количество глицерина и

эфирного масла мяты перечной. Содержимое реактора-смесителя тщательно гомогенизируют посредством якорной мешалки до образования однородной системы. Деаэрацию геля для устранения излишней завоздушенности массы проводят путем отстаивания в течении 2 часов с периодическим перемешиванием. После завершения процесса химик отдела контроля качества отбирает образец для проведения контроля нормативных параметров (внешнего вида, цвета, запаха, рН, подлинности и количественного определения компонентов геля). При положительных результатах анализа содержимое реактора поступает на стадию УМО 5. В случае установления неоднородности содержимого реактора его подвергают дополнительной гомогенизации.

УМО 5. Фасовка, упаковка. После получения заключения отдела контроля качества о соответствии нормативных параметров гель дозирующим устройством фасуют в тубы алюминиевые массой 30,0 или 50,0 г. После заполнения туб гелем проводят завальцовку (расплющивание и загиб) конца тубы противоположного горлышку двойным загибом. Предельные отклонения по массе не должны превышать при массе от 20,0 до 50,0 г $\pm 5\%$; от массы, указанной на таре. В процессе работы периодически проводят контроль объема туб. При несоответствии фактической массы требованиям НД проводят регулировку дозирующего устройства. Во время проведения операции проводится визуальный контроль чистоты, качества и герметичности упаковки. Отбракованные тубы и крышки утилизируют. Наносят штамп с номером партии и датой производства. Каждая туба вместе с инструкцией по применению подается на картонажную машину или упаковывается вручную по РД 00001910-6-92 в картонные коробки по ГОСТ 12301. Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с требованиями ГОСТ 17768-90. Маркировку проводят в соответствии с МУ 9467-015-05749470-98. На этикетке, алюминиевой тубе и коробке указывают предприятие-изготовитель, товарный знак и адрес, название препарата на русском языке, состав, массу препарата в граммах, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, дату изготовления, срок годности, «применять согласно инструкции». На пачке указывается штрих-код. На этикетке групповой тары

указывают дополнительно количество пачек. Маркировка тары должна соответствовать ГОСТ 14192-96, МУ 9467-015-05749470-98, ГОСТ 17768-90.

3.3. Стандартизация и изучение стабильности в процессе хранения геля для лечения кариеса эмали

Особенности проведения анализа связаны с сочетанием активных компонентов, которые склонны к взаимодействию между собой, и с трудностью выделения активных соединений из полимерной основы, их разделения между собой вследствие их одинаковой растворимости в средах, используемых в анализе.

При разработке методик подлинности и количественного определения за основу взяты методы для определения субстанций, модифицированные с учетом специфики ЛФ.

Стандартизация является необходимым условием внедрения ЛП в медицинскую практику. Стандартизацию геля для лечения кариеса эмали проводили по показателям: «Подлинность», «Количественное определение» действующих компонентов, «Микробиологическая чистота» и рН. Она предусматривает валидационную оценку методик, предназначенных для контроля качества ЛС (фармацевтических субстанций и ЛП) по параметрам, которые могут быть использованы для включения в регистрационные, производственные документы на ЛС и прочую нормативно-техническую документацию [11, 77, 93].

3.3.1. Валидация методик подлинности и количественного определения активных компонентов геля для лечения кариеса эмали

Валидация методик испытаний – документированное подтверждение обоснованности выбора метода испытания для определения показателей и норм качества ЛС. Одним из элементов валидации процесса производства ЛП является валидация аналитических методик, главной задачей которой является экспериментальное доказательство пригодности методик для решения предполагаемых задач [11, 77].

Валидацию методик проводили в соответствии с характеристиками ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» под руководством доцента кафедры фармацевтической химии факультета дополнительного профессионального образования и факультета заочного обучения Березиной Е.С. [30].

Изучены валидационные характеристики методик подлинности и количественного определения кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в геле для лечения кариеса эмали согласно методикам, описанным в гл. 2.2.2.

Специфичность методик - это способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов [11, 30, 77].

Специфичность методик испытания на подлинность исследовалась на модельных смесях известного состава (полный состав геля, плацебо гель и смеси с чередующимися активными компонентами от заявленного состава). На основании проведенного исследования выбраны методики определения подлинности, представленные в гл. 2.2.1., которые характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на модельных смесях свободных от определяемого компонента и плацебо, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент.

Специфичность методик количественного определения исследовалась на модельных смесях с чередующимися компонентами от заявленного состава, результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Результаты исследования специфичности методик количественного определения компонентов геля для лечения кариеса эмали (содержание компонентов на 100,0 г)

Состав модельной смеси	$CaCl_2$		K_2HPO_4		NaF	
	заявлено	найдено	заявлено	найдено	заявлено	найден о
гель: $CaCl_2$, K_2HPO_4 , NaF	7,650 $\pm 0,079$	7,665 $\pm 0,079$	13,320 $\pm 0,071$	13,236 $\pm 0,070$	0,20 $\pm 0,004$	0,199 $\pm 0,004$
гель: $CaCl_2$	7,650 $\pm 0,079$	7,655 $\pm 0,079$	-	-	-	-
гель: K_2HPO_4	-	-	13,320 $\pm 0,071$	13,342 $\pm 0,071$	-	-
гель: NaF	-	-	-	-	0,20 $\pm 0,004$	0,201 $\pm 0,004$
гель: $CaCl_2$, K_2HPO_4	7,650 $\pm 0,079$	7,651 $\pm 0,079$	13,320 $\pm 0,071$	13,132 $\pm 0,069$	-	-
гель: $CaCl_2$, NaF	7,650 $\pm 0,079$	7,666 $\pm 0,079$	-	-	0,20 $\pm 0,004$	0,199 $\pm 0,004$
гель: K_2HPO_4 , NaF	-	-	13,32 $\pm 0,071$	13,336 $\pm 0,071$	0,20 $\pm 0,004$	0,198 $\pm 0,004$

Полученные результаты соответствуют критериям приемлемости, доверительные интервалы составили: для кальция хлорида $7,659 \pm 0,012$ г, для калия фосфата двузамещенного $13,262 \pm 0,158$ г и для натрия фторида $0,199 \pm 0,002$ г, следовательно, методики количественного определения активных компонентов ПЛ являются специфичными.

Линейная зависимость метода показывает наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики [11, 30, 77]. Линейность методик исследовалась на модельных смесях в трех параллелях в интервале от 70% до 130% от заявленного содержания активных компонентов. Результаты представлены графически на рисунках 11 и 12 в виде зависимости расхода титранта для титриметрических методов анализа и оптической плотности для фотоэлектроколориметрического метода от содержания исследуемого компонента.

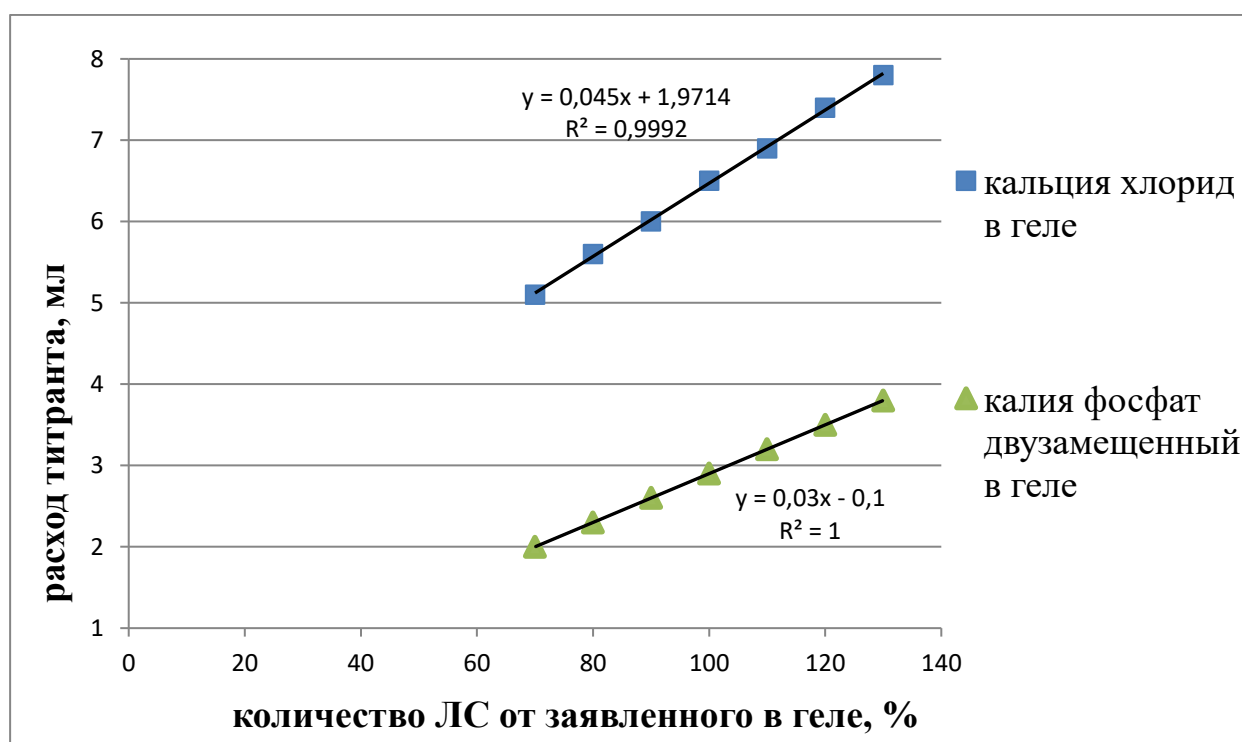


Рисунок 11 - Зависимость расхода титранта (мл) от количества кальция хлорида и калия фосфата двузамещенного при титриметрическом определении на модельных смесях в диапазоне от 70 до 130% от заявленного содержания

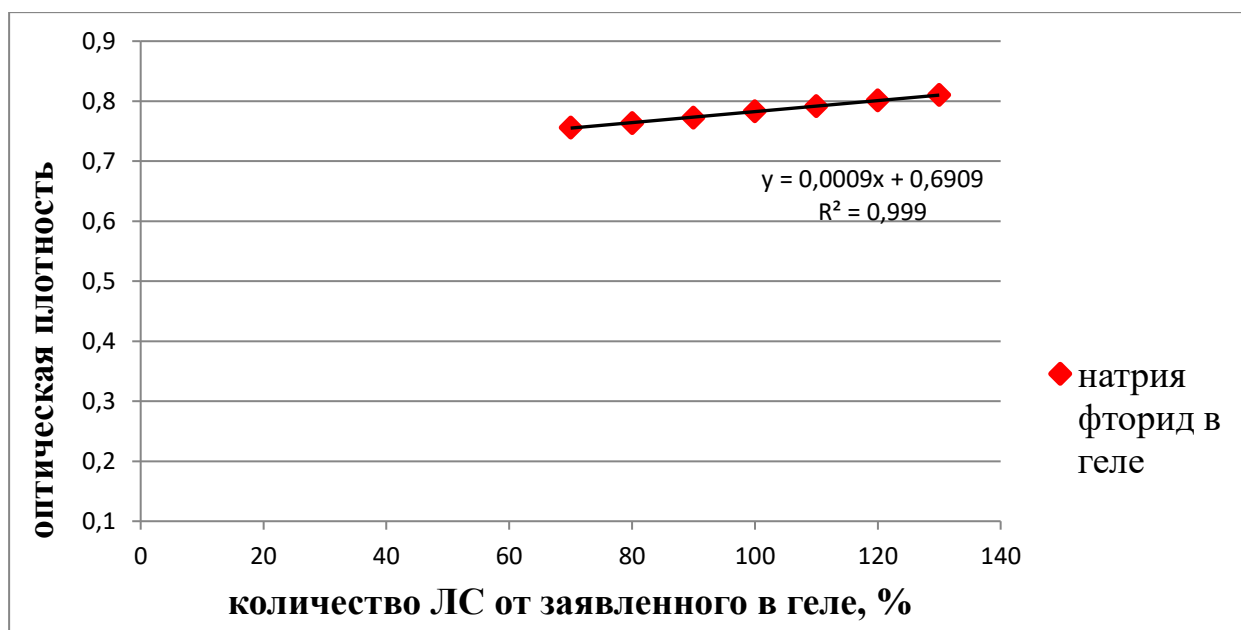


Рисунок 12 - Зависимость оптической плотности от количества натрия фторида при фотоэлектроколориметрическом определении на модельных смесях в диапазоне от 70 до 130% от заявленного содержания

Линейная зависимость характеризуется коэффициентом корреляции R и уравнением регрессии $y=bx+a$, где b – тангенс угла наклона прямой; a – точка пересечения прямой с осью y ; x – количество или концентрация определяемого вещества. Коэффициент корреляции регрессионного графика R составил в геле для лечения кариеса эмали: для натрия фторида - 0,9990; кальция хлорида – 0,9992; для калия фосфата двузамещенного – 1,0000.

Полученные результаты показывают, что соблюдается линейная зависимость между величинами аналитических сигналов и содержанием исследуемых компонентов в геле для лечения кариеса эмали в интервале от 70 до 130% от декларируемого количества. Этот интервал можно определить, как аналитическую область методики.

Правильность методик характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное и признается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике. [11, 30, 77]. Данная характеристика установлена по результатам анализа модельных смесей в трех

параллелях определения для 7 аналитических концентраций в интервале от 70 до 130 % от декларируемого состава. Результаты определения правильности методик представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Оценка правильности методик количественного определения компонентов геля для лечения кариеса эмали (на 100,0 г геля)

ОЦЕНКА ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИК									
Кол-во ЛС от заявленн ого, %	Введено, г			Найдено, г			Z_i , %		
	$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF	$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF	$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF
70	5,355 ±0,056	9,324 ±0,049	0,140 ±0,003	5,431 ±0,056	9,510 ±0,050	0,138 ±0,003	101,4	101,9	98,7
80	6,120 ±0,064	10,656 ±0,056	0,160 ±0,003	6,190 ±0,064	10,515 ±0,056	0,158 ±0,003	101,1	98,7	98,6
90	6,885 ±0,072	11,988 ±0,064	0,180 ±0,003	6,734 ±0,070	11,874 ±0,063	0,177 ±0,003	97,8	99,0	98,5
100	7,650 ±0,079	13,320 ±0,071	0,200 ±0,004	7,665 ±0,080	13,236 ±0,070	0,199 ±0,004	100,2	99,4	100,0
110	8,415 ±0,088	14,652 ±0,078	0,220 ±0,004	8,472 ±0,088	14,717 ±0,078	0,219 ±0,004	100,7	100,4	99,6
120	9,180 ±0,095	15,984 ±0,085	0,240 ±0,005	9,124 ±0,091	15,849 ±0,084	0,237 ±0,005	99,4	99,2	98,6
130	9,945 ±0,103	17,316 ±0,092	0,260 ±0,005	9,775 ±0,098	17,208 ±0,091	0,257 ±0,005	98,3	99,4	99,0

Из результатов, представленных в таблице 6, видно, что отношение «найдено : введено» (Z_i) находится в интервале 97-101%. Отклонение \bar{Z} от 100% не превышает доверительный интервал $\delta\% = |-0,48095| \leq 0,541053$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методик.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность методик характеризуется степенью совпадения результатов индивидуальных определений при многократном использовании в условиях работы одной лаборатории [11, 30, 77]. Результаты количественного определения активных компонентов геля для лечения кариеса эмали представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Результаты количественного определения активных компонентов в геле для лечения кариеса эмали (на 100,0 г геля)

ОЦЕНКА ВНУТРИЛАБОРАТОРНОЙ ПРЕЦИЗИОННОСТИ МЕТОДИК						
Активный компонент		Метрологические характеристики				
		X, г	\bar{X} , г	S, г	ε , %	$\bar{\varepsilon}$, %
Калия фосфат двузамещенный	1	13,49	13,48	0,024	0,496	0,222
	2	13,51			0,496	
	3	13,47			0,497	
	4	13,50			0,496	
	5	13,45			0,498	
Кальция хлорид	1	7,58	7,51	0,063	2,311	1,04
	2	7,47			2,345	
	3	7,48			2,342	
	4	7,45			2,351	
	5	7,58			2,311	
Натрия фторид	1	0,207	0,202	0,004	5,321	2,44
	2	0,199			5,535	
	3	0,205			5,373	
	4	0,198			5,563	
	5	0,200			5,508	

Доверительные интервалы составили: для кальция хлорида $7,512 \pm 0,078$ г, для калия фосфата двузамещенного $13,484 \pm 0,299$ г и для натрия фторида $0,202 \pm 0,005$ г, по представленным параметрам (величины стандартного отклонения,

доверительный интервал), можно сделать заключение о прецизионности исследуемых методик под влиянием внутрилабораторных вариаций.

Данные методики могут быть использованы для количественного определения кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в диапазоне концентраций от 70 до 130% от декларируемого количества.

3.3.2. Испытание на подлинность и количественное определение активных компонентов в геле для лечения кариеса эмали

Подлинность

Испытания на подлинность кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в составе геля проводили характерными реакциями на катионы и анионы: на катион кальция с оксалатом аммония раствором 4%; на хлорид ион реакцией с серебра нитратом раствором 2% в присутствии азотной кислоты разведенной 16%; на катион калия с винной кислотой раствором 20%; на фосфат ион с серебра нитратом раствором 2% при $pH=7$; на катион натрия микрокристаллоскопической реакцией с раствором калия пироантимоната и на фторид ион реакцией с цирконил-ализариновым комплексом, описанными в гл. 2.2.1.

Количественное определение

Количественное определение активных компонентов проводили по методикам, описанным в гл. 2.2.2. Количественное определение кальция хлорида проводили обратным комплексонометрическим методом. Для количественного определения калия фосфата двузамещенного в геле использовали ацидиметрический метод, вариант вытеснения. Для количественного определения натрия фторида применяли фотоэлектроколориметрический метод, в качестве цветной реакции использовали реакцию с цирконил-ализариновым комплексом, расчет вели по рабочему стандартному раствору. Результаты количественного определения действующих веществ в геле представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Результаты количественного определения активных компонентов в геле для лечения кариеса эмали (количество содержания компонентов на 100,0 г геля)

Активный компонент	Серия	Метрологические характеристики					
		X , г	\bar{X} , г	S , г	$\Delta\bar{X}$	ε , %	$\bar{\varepsilon}$, %
K_2HPO_4	1	13,49	13,48	0,024	0,0299	0,496	0,222
	2	13,51				0,496	
	3	13,47				0,497	
	4	13,5				0,496	
	5	13,45				0,498	
$CaCl_2$	1	7,58	7,51	0,063	0,0783	2,311	1,04
	2	7,47				2,345	
	3	7,48				2,342	
	4	7,45				2,351	
	5	7,58				2,311	
NaF	1	0,207	0,202	0,004	0,0049	5,321	2,441
	2	0,199				5,535	
	3	0,205				5,373	
	4	0,198				5,563	
	5	0,200				5,508	

Содержание в геле для лечения кариеса эмали кальция хлорида должно находиться в пределах [7,42-7,88] г, калия фосфата двузамещенного [12,92-13,72] г и натрия фторида [0,18-0,22] г, на массу геля 100,00 г.

3.3.3. Исследование физико-химических параметров геля для лечения кариеса эмали

По внешнему виду гель представляет собой белую опалесцирующую однородную вязко-пластично-упругую массу, с запахом мяты перечной.

Однородность определялась визуально и свидетельствует об отсутствии расслоения.

Определение pH геля проводили по методике, описанной в гл. 2.2.3. pH стоматологического геля должна находится в пределах 6,8-8,5. pH геля для лечения кариеса эмали составила $7,50 \pm 0,05$.

В результате проведенных исследований установлены нормы качества геля для лечения кариеса эмали по показателям «Подлинность», «Количественного определение» активных компонентов и pH. Установленные показатели свидетельствуют об удовлетворительном качестве исследуемого геля и могут являться критериями оценки их доброкачественности при поэтапном контроле в процессе производства и контроле качества конечного продукта.

3.3.4. Исследование микробиологической чистоты геля для лечения кариеса эмали в процессе хранения

Согласно ОФС.1.2.4.0001.15 «Микробиологическая чистота» препараты для местного, наружного применения относятся к категории 2 и должны соответствовать следующим требованиям: общее число аэробных бактерий и дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) – не более 10^2 КОЕ в 1,0 г препарата, при отсутствии *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* [30].

Результаты исследования микробиологической чистоты геля для лечения кариеса эмали представлены в таблице 9. По результатам, представленным в таблице, следует, что гель для лечения кариеса эмали соответствует требованиям ОФС.1.2.4.0001.15 по показателям общего микробного числа и не содержит бактерий группы кишечной палочки, золотистого стафилококка и синегнойной палочки и может использоваться как местный препарат.

Таблица 9 - Результаты исследования микробиологической чистоты геля для лечения кариеса эмали

№ серии	Количество колоний в 1,0 г образца		Наличие/ отсутствие в 1,0 г образца		
	аэробных бактерий	грибов (дрожжи и плесни)	<i>сем. Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
2	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
3	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
4	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
5	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует

Результаты оценки качества геля для лечения кариеса эмали на пяти сериях по внешнему виду, качественному и количественному анализу, рН и микробиологической чистоте представлены в таблице 10. Полученные данные свидетельствуют о соответствии геля нормируемым требованиям.

Таблица 10 - Результаты стандартизации геля для лечения кариеса эмали

№ серии	Описание	Подлинность						Количественное определение			рН метод потенциометрии	Микробиологическая чистота
		Ca ²⁺ с оксалатом аммония раствора 4%	Cl ⁻ с серебра нитратом раствора 2% в присутствии азотной кислоты	K ⁺ с винной кислотой раствора 20%	HPO ₄ ⁻² с нитратом серебра раствора 2% при рН=7,0	Na ⁺ с раствором калия пиромоната	F ⁻ с цирконий - ализариновым комплексом	CaCl ₂ комплексометрический метод	K ₂ HPO ₄ ацидиметрический метод	NaF фотометрический метод		
Нормируемые требования												
	белая опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной	белый осадок, НР в уксусной к-те, разв. 30% и аммиака р-ре 10%, Р в разв. мин. к-тах	белый творожистый осадок, НР в азотной к-те разв. 16% и Р в аммиака р-ре 10%	белый кристаллический осадок Р в разв. мин. к-тах и р-рах гидроксидов щелочных металлов	желтый осадок, Р в азотной к-те разв. 16% и аммиака р-ре 10%	кристаллы в виде призм	изменение окраски раствора от красно-фиолетовой до желтой	7,65 ± 0,23	13,32 ± 0,39	0,20 ± 0,005	6,8-8,5	не более 10 ² КОЕ в 1,0 г
1	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	7,58 ± 0,079	13,49 ± 0,073	0,20 ± 0,005	7,45 ± 0,05	<100
2	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	7,70 ± 0,080	13,36 ± 0,072	0,19 ± 0,004	7,55 ± 0,05	<100
3	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	7,68 ± 0,080	13,39 ± 0,072	0,20 ± 0,005	7,50 ± 0,05	<100
4	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	7,58 ± 0,079	13,42 ± 0,072	0,19 ± 0,004	7,40 ± 0,05	<100
5	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	7,53 ± 0,078	13,48 ± 0,073	0,20 ± 0,005	7,52 ± 0,05	<100

3.3.5. Исследование стабильности геля для лечения кариеса эмали в процессе хранения

Одним из показателей, определяющим стабильность гелей при хранении является испаряемость их жидкой фазы. Гидрофильные основы содержат значительное количество воды, оставаясь на воздухе или в неплотно укупоренной таре в течении нескольких часов могут терять пластичность и как следствие повышение показателей их вязкости, предельного напряжения сдвига. С целью определения устойчивости геля к потере влаги при хранении, а также с целью выбора оптимального тароупаковочного материала проведено исследование высыхаемости, представленное на рисунке 13. Исследование высыхаемости проводили по методике, представленной в гл. 2.2.3. [3].

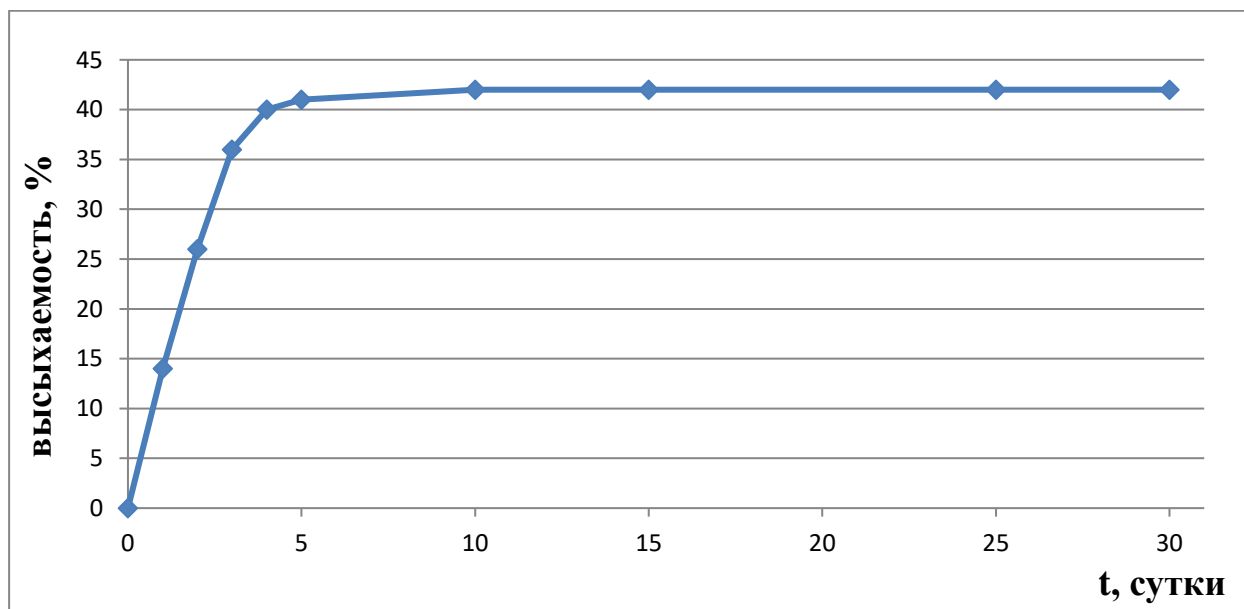


Рисунок 13 - Результаты определения высыхаемости геля для лечения кариеса эмали

Как видно из рисунка 13 наибольшая потеря влаги происходит в первые пять дней - до 40%, что связано с уменьшением водной фазы, что позволяет исключить из возможного тароупаковочного материала широкогорлые банки с навинчивающейся крышкой. В качестве тароупаковочного материала можно рекомендовать тубы пластиковые или алюминиевые с лаковым покрытием с пластмассовыми бушонами, так как данная упаковка минимизирует контакт с воздухом и как следствие снижает потерю водной фазы. Для экспериментального

исследования стабильности в процессе хранения выбраны тубы алюминиевые с лаковым покрытием и с пластмассовыми бушонами, как наиболее удобный вариант, который позволяет завальцовывать края тубы ручным способом, без использования дополнительного оборудования.

Стабильность геля для лечения кариеса эмали определяли методом долгосрочных испытаний стабильности при температуре от 8 до 15⁰С и относительной влажности воздуха не более 60 ± 5% в алюминиевых тубах с лаковым покрытием и пластмассовыми бушонами без вторичной упаковки на 5 сериях геля для лечения кариеса эмали в исследуемой группе, по показателям, представленным в таблице 11.

Таблица 11 – Спецификации геля для лечения кариеса эмали

№	Показатели	Методы определения	Нормы
1	Описание	визуальный ГФ XIII	белая опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной
2	Подлинность	с оксалатом аммония раствором 4% (кальций);	белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте, разведенной 30% и аммиака растворе 10%, растворимый в разведенных минеральных кислотах;
		с серебра нитратом раствором 2% в присутствии азотной кислоты разведенной 16% (хлориды);	белый творожистый осадок, нерастворимый в азотной кислоте разведенной 16% и растворимый в аммиака растворе 10%;

		с винной кислотой раствором 20% (калий);	белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов;
		с серебра нитратом раствором 2% при pH=7,0 (фосфаты);	желтый осадок, растворимый в азотной кислоте, разведенной 16% и аммиака растворе 10%;
		с раствором калия пироантимоната (натрий);	кристаллы в виде призм;
		с цирконил-ализариновым комплексом (фториды).	изменение окраски раствора от красно-фиолетовой до желтой.
3	Количественное определение	Кальция хлорид, метод обратной комплексометрии.	[7,42-7,88] г.
		Калия фосфат двузамещенный, метод ацидиметрии	[12,92-13,72] г.
		Натрия фторид, метод фотоэлектроколориметрии	[0,18-0,22] г.
4	Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0001.15 «Микробиологическая чистота»	не более 10^2 КОЕ в 1,0, при отсутствии <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .

5	рН водного извлечения	ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия»	[6,8-8,5]
6	Масса содержимого упаковки	ОФС.1.4.2.0007.15 «Масса (объем) содержимого упаковки»	В соответствии с требованиями ОСТ 64-492-85
7	Упаковка	Тубы и бушоны для медицинских мазей по 30,0 и 50,0 ТУ 64-7-678-90	
8	Маркировка	В соответствии с требованиями Федерального закона от 12.04.2010 N 61-ФЗ "Об обращении лекарственных средств"	
9	Хранение	От 8 до 15°C, при относительной влажности не более 60±5%	
10	Срок годности	2 года	

Установленные показатели и нормы качества положены в основу разработанного проекта ФС на гель.

Сравнительная оценка значений показателей качества гелей представлена в таблице 12. Она свидетельствует о корреляции результатов при стабильности физико-химических показателей и количественного содержания действующих веществ в геле в течение 2 лет, изменения в количественном содержании активных компонентов в геле находятся в пределах норм допустимых отклонений, что говорит о приемлемости результатов метода долгосрочных испытаний стабильности.

Таблица 12 - Результаты изучения стабильности геля для лечения кариеса эмали

№ серии	Срок хранения, месяц	Описание	Подлинность	Количественное определение			рН	Микробиологическая чистота
				$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF		
1	0	опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной	положительна	7,58±0,079	13,49±0,073	0,20 ±0,005	7,45±0,05	Соотв.
	6		положительна	7,47±0,078	13,35±0,072	0,20±0,005	7,50±0,05	Соотв.
	12		положительна	7,48±0,078	13,11±0,071	0,19±0,004	7,40±0,05	Соотв.
	18		положительна	7,45±0,078	13,15±0,071	0,19±0,004	7,45±0,05	Соотв.
	24		положительна	7,48±0,078	13,12±0,071	0,19±0,004	7,49±0,05	Соотв.
	27		положительна	7,48±0,078	13,05±0,070	0,19±0,004	7,45±0,05	Соотв.
2	0	опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной	положительна	7,70±0,080	13,36±0,072	0,20 ±0,005	7,55 ±0,05	Соотв.
	6		положительна	7,69±0,080	13,30±0,072	0,20±0,005	7,60 ±0,05	Соотв.
	12		положительна	7,63±0,079	13,25±0,072	0,20±0,005	7,53 ±0,05	Соотв.
	18		положительна	7,58±0,079	13,22±0,071	0,20±0,005	7,58 ±0,05	Соотв.
	24		положительна	7,48±0,078	13,13±0,071	0,20±0,005	7,53 ±0,05	Соотв.
	27		положительна	7,45±0,078	12,96±0,070	0,20±0,005	7,60 ±0,05	Соотв.
3	0	опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной	положительна	7,68±0,080	13,39±0,072	0,20 ±0,005	7,50 ±0,05	Соотв.
	6		положительна	7,68±0,080	13,29±0,072	0,20±0,005	7,50 ±0,05	Соотв.
	12		положительна	7,69±0,080	13,17±0,071	0,19±0,004	7,48 ±0,05	Соотв.
	18		положительна	7,67±0,080	13,16±0,071	0,20±0,005	7,52 ±0,05	Соотв.
	24		положительна	7,67±0,080	13,03±0,070	0,20±0,005	7,54 ±0,05	Соотв.
	27		положительна	7,46±0,078	12,98±0,070	0,200,005±	7,50 ±0,05	Соотв.
4	0	опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной	положительна	7,58±0,078	13,42±0,072	0,19±0,004	7,40 ±0,05	Соотв.
	6		положительна	7,58±0,078	13,42±0,072	0,20±0,005	7,45 ±0,05	Соотв.
	12		положительна	7,56±0,078	13,35±0,072	0,20±0,005	7,48 ±0,05	Соотв.
	18		положительна	7,52±0,078	13,29±0,072	0,20±0,005	7,42 ±0,05	Соотв.
	24		положительна	7,47±0,078	13,12±0,071	0,19±0,004	7,49 ±0,05	Соотв.
	27		положительна	7,44±0,077	12,99±0,070	0,20±0,005	7,55±0,05	Соотв.
5	0	опалесцирующая однородная гелеобразная масса, с запахом мяты перечной	положительна	7,53±0,078	13,48±0,073	0,20±0,005	7,52 ±0,05	Соотв.
	6		положительна	7,52±0,078	13,46±0,073	0,20±0,005	7,60 ±0,05	Соотв.
	12		положительна	7,53±0,078	13,37±0,072	0,20±0,005	7,55 ±0,05	Соотв.
	18		положительна	7,52±0,078	13,35±0,072	0,20±0,005	7,63 ±0,05	Соотв.
	24		положительна	7,49±0,078	13,23±0,071	0,20±0,005	7,54 ±0,05	Соотв.
	27		положительна	7,43±0,077	13,10±0,070	0,20±0,005	7,55±0,05	Соотв.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

1. На основании изучения теоретического материала и поэтапного экспериментального исследования 45 гидрофильных композиций обоснован выбор лекарственных и вспомогательных средств, разработан состава геля для лечения кариеса эмали.

2. В результате проведенных биофармацевтических исследований установлено, что высвобождение кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида происходит в течении 15-20 минут, что определяет оптимальное время аппликации геля для лечения кариеса эмали.

3. Исследована кинетика высвобождения активных компонентов из геля в зависимости от различных факторов, установлено что повышение температуры и перемешивание увеличивает скорость релиза, а изменение межфазной поверхности не оказывает существенного влияния. Скорость релиза активных компонентов из геля для лечения кариеса эмали составила $4,1 \cdot 10^{-3}$ г/л*с.

4. На основании проведенных реологических исследований установлено, что гель для лечения кариеса эмали является структурированной упруго-вязко-пластичной системой и обладает тиксотропными свойствами, что обеспечивает хорошую намазываемость геля и способность выдавливаться из туб.

5. В результате физико-химических и технологических исследований разработан следующий состав геля для лечения кариеса эмали:

Кальция хлорида	7,65 (Ca ²⁺ - 1,4 г/иона)
Калия фосфата двузамещенного	13,32 (HPO ₄ ²⁻ -5,6 г/иона)
Натрия фторида	0,2 (F ⁻ - 0,09 г/иона)
Натрий - КМЦ	4,0
Ксилита	0,2
Глицерина	10,0
Масло мяты перечной	0,2
Воды очищенной	до 100,0

6. Разработана технология изготовления геля для лечения кариеса эмали, с учетом свойств, вводимых лекарственных и вспомогательных компонентов.

7. Изучены валидационные характеристики методик подлинности и количественного определения основных действующих компонентов геля для лечения кариеса эмали, установлено, что предложенные методики подлинности являются специфичными, методики количественного определения специфичны, характеризуются удовлетворительной точностью, внутрилабораторной прецизионностью, линейной зависимостью в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию действующих веществ, что позволяет использовать их для достоверной оценки качества.

8. Проведена стандартизация геля для лечения кариеса эмали по показателям: «Подлинность», «Количественное определение» действующих веществ, «рН» и «Микробиологическая чистота», установленные показатели свидетельствуют об удовлетворительном качестве исследуемого геля и могут являться критериями оценки его доброкачественности при постадийном контроле в процессе изготовления и при контроле качества готового продукта.

9. На основании исследования степени высыхаемости геля установлено, что широкогорлые банки с навинчивающейся крышкой не подходят в качестве тароупаковочного материала для долгосрочного хранения геля.

10. Методом долгосрочных испытаний стабильности при хранении в алюминиевых тубах с лаковым покрытием и пластмассовыми бушонами, температуре от 8 до 15⁰С установлен срок годности геля для лечения кариеса эмали в течении 2 лет.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ПЛЕНОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ

4.1. Разработка состава пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

4.1.1. Обоснование выбора компонентов пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Выбор фармакологически активных веществ для включения в ПЛ произведен на основании анализа литературных данных и по рекомендациям врачей высшей категории кафедры стоматологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России в качестве активных компонентов выбраны субстанции кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного в превалировании фосфатов над кальцием в соотношении 4:1, натрия фторида, в концентрации рекомендуемой ВОЗ, в качестве корригента вкуса – ксилит и ароматической добавки эфирное масло мяты перечной, значение которых в реминерализующей терапии подробно описано в гл. 1.2. и 3.1.1.

Помимо действующих веществ основным компонентом ПЛ является носитель ЛС, придающий ЛФ необходимые структурно-механические, технологические и потребительские свойства. Увлажнение ротовой полости слюной обуславливает быстрое вымывание ЛС в низлежащие отделы пищеварительного тракта, закреплять терапевтический эффект позволяет использование ПЛ на основе полимеров. Для получения ПЛ используют различные соединения полимерной природы синтетического, полусинтетического и природного происхождения. Наиболее часто используют гидрофильные соединения с высокой мукоадгезивностью, такие как желатин, коллаген, производные целлюлозы, альгиновой кислоты, поливинилпирролидон, поливиниловый спирт, полиэтиленоксиды и др [67, 68, 78, 100, 106 108].

Выбор компонентов матрицы ПЛ проводили на основании анализа литературных данных, зарегистрированных составов, учитывали основные

требования, предъявляемые к ПЛ и физико-химические свойства, вводимых ЛС. При выборе пленочной композиции приоритетными свойствами являлись: минимальная токсичность, простота состава, физиологическая и химическая индифферентность компонентов, стабильность и микробиологическая чистота при хранении ПЛ. Они не должны вызывать сухость слизистой оболочки ротовой полости и уменьшать секрецию слюнных желез. Основным свойством пленкообразующего полимера, определяющим фармакологические свойства, является способность растворяться в ротовой полости в незначительном количестве слюны и доставлять ЛС к поверхности эмали [1].

Состав матрицы для получения ПЛ включает гидрофильный полимер, пластификатор, растворитель, корригент вкуса и запаха [5, 6].

При изготовлении ЛП, к которым не предъявляются требований в отношении стерильности и/или апиrogenности, используется вода очищенная, надлежащего качества [31, 94]. Поэтому в качестве растворителя использовали воду очищенную, которая обладает рядом преимуществ: фармакологическая индифферентность, доступность и хорошая растворяющая способность ЛС, выбранных для введения в ПЛ.

Поскольку действующие вещества являются водорастворимыми целесообразно использовать водорастворимые полимеры, которые обладают нейтральными вкусовыми качествами, и разрешены для применения в фармацевтической промышленности. В качестве гидрофильных полимеров для получения пленкообразующего раствора использовали коммерчески доступные полимеры отечественного производства. Производные целлюлозы обладают хорошими биоадгезивными свойствами и ранозаживляющей способностью, имеют нейтральный вкус и образуют прочные пленки. Раствор натрий-КМЦ, широко применяемый в косметических средствах, описан в перечне ЕЭС и признан безопасным Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов — FDA [36, 38, 80, 108].

На основании ранее проведенных многочисленных исследований оптимальным вариантом для создания ПЛ является комбинация 3% раствора

натрий-КМЦ с 2% глицерина, исследования подтвердили хорошие структурно-механические свойства, высвобождающую способность и хорошую совместимость с ЛС как химического, так и растительного происхождения [4, 15, 23, 27, 66, 108].

Низкомолекулярный гидрофильный пластификатор глицерин в состав ПЛ вводили для уменьшения хрупкости, придания гибкости, предохранения ее от высыхания и потери эластичности в процессе хранения. Глицерин способен неограниченно смешиваться, прочно и длительно удерживаться в полимерной матрице, его введение увеличивает способность основ поглощать жидкость, что увеличивает их активность и продолжительность осмотического действия [81].

Пленкообразующий раствор полимера для получения ПЛ должен обладать оптимальной вязкостью, которая определяется концентрациями в растворе полимера и активных компонентов. Структурно-механические характеристики поливочного раствора оказывают значительное влияние на морфологические характеристики ПЛ и параметры технологического процесса нанесения пленкообразующего раствора на подложку: легкость нанесения и адгезию к поверхности подложки. Исследования реологических показателей проводили на ротационном вискозиметре «Rheotest 2.1» (Германия) с коаксиальными цилиндрами по методите представленной в гл. 2.2.3. Процессы, происходящие в вискозиметре во время смещения слоев вязко-пластичного материала относительно друг друга аналогичны усилиям, приложенным к раствору при нанесении. Напряжение сдвига, которое характеризует сопротивляемость материала сдвиговым деформациям при определенной скорости, аналогично затрачиваемым усилиям при нанесении раствора. Таким образом, удобство и легкость нанесения поливочного раствора на подложку может быть измерено инструментально. В таблице 13 приведены результаты исследования касательного напряжения сдвига и эффективной вязкости поливочного раствора.

Таблица 13 - Реологические параметры поливочного раствора ПЛ

Скорость сдвига, с ⁻¹	Восходящая		Нисходящая	
	Касательное напряжение, Па	Эффективная вязкость, Па*с	Касательное напряжение, Па	Эффективная вязкость, Па*с
0,556	21,088	37,928	26,360	48,990
1	25,481	25,481	26,361	26,360
1,667	26,360	15,813	27,2389	15,813
3	28,117	9,372	34,268	11,423
5	67,657	17,925	34,268	6,854
9	71,172	7,517	41,297	4,589
15	73,808	4,745	50,084	3,339
27	78,201	2,734	57,113	2,115
45	89,624	1,738	59,749	1,328
81	108,955	1,345	99,289	1,226
135	142,344	1,054	134,436	0,996
243	191,549	0,788	144,101	0,593

Исходя из данных представленных в таблице 13, эффективная вязкость поливочного раствора падает с увеличением скорости сдвига и возрастанием касательного напряжения сдвига. Такая зависимость характеризует наличие структуры поливочном растворе ПЛ, следовательно, раствор для получения ПЛ является псевдо-пластичным телом, легко перемешивается мешалкой и равномерно без сопротивления наносится на подложку с образованием однородной прозрачной пленки.

4.1.2. Биофармацевтические исследования пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

При разработке ЛФ необходимо проведение биофармацевтических исследований по изучению влияния фармацевтических факторов на терапевтическую активность, показателем которой является степень высвобождения активных компонентов. Способность ПЛ обеспечивать оптимальную биологическую доступность является важным показателем их качества.

На первом этапе исследования изучена растворимость ПЛ, когда сопротивление мембраны диффузному потоку равно нулю, то есть, наблюдалось полное высвобождение ионов ЛС в водную фазу. Ввиду того, что значение удельной электропроводимости обладает свойствами аддитивности и складывается из проводимостей всех компонентов: ионов основы и ионов активных компонентов, поэтому изучали растворение, как пленок-плацебо, так и ПЛ. Результаты исследования приведены на рисунке 14.

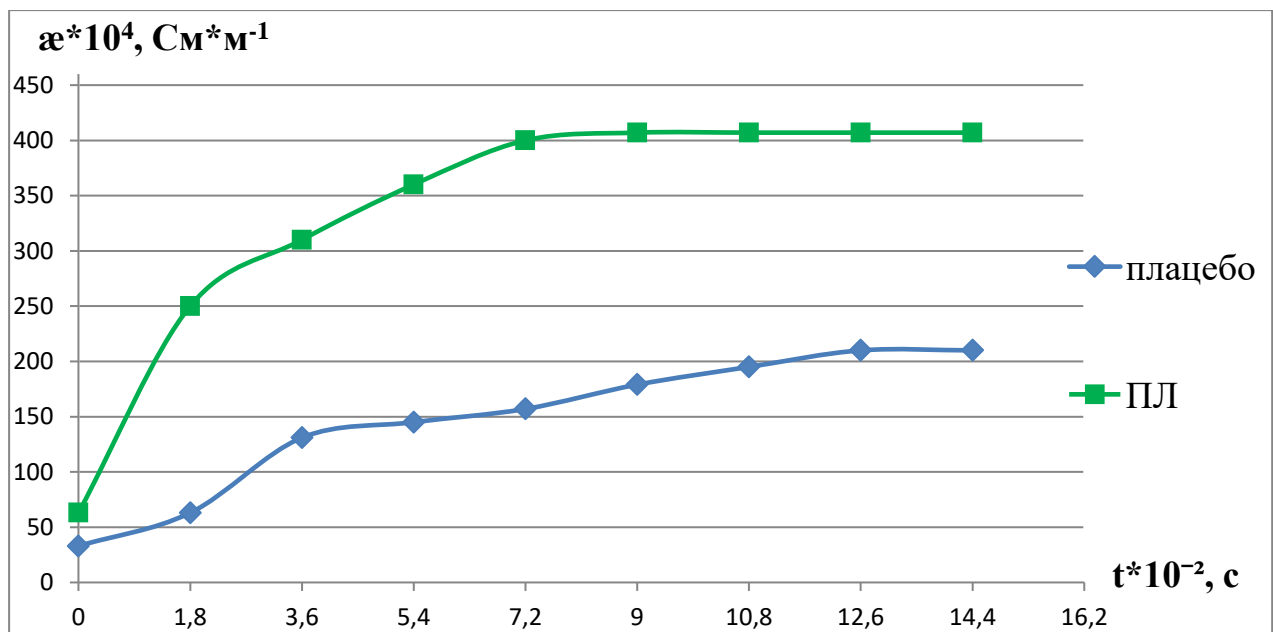


Рисунок 14 - Кинетика высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса эмали и плацебо

Из рисунка 14 видно, что ПЛ полностью растворяются через 15 минут, плацебо через 24 минуты. Разное время растворения доказывает то, что при введении ЛС ослабляются межмолекулярные связи и процесс идет быстрее.

С увеличением времени растворения количество высвобождаемых ионов увеличивается, что выражается в увеличении удельной электропроводимости. Средняя скорость растворения ПЛ составила $1,33 \cdot 10^{-3}$ (г/л)*с.

Исследование кинетики набухания ПЛ

Экспериментальные исследования кинетики набухания проведены путем определения степени набухания ПЛ и плацебо через определенные промежутки времени, по методике, описанной г.2.2.3. Кривые, характеризующие кинетику набухания, представлены на рисунке 15.

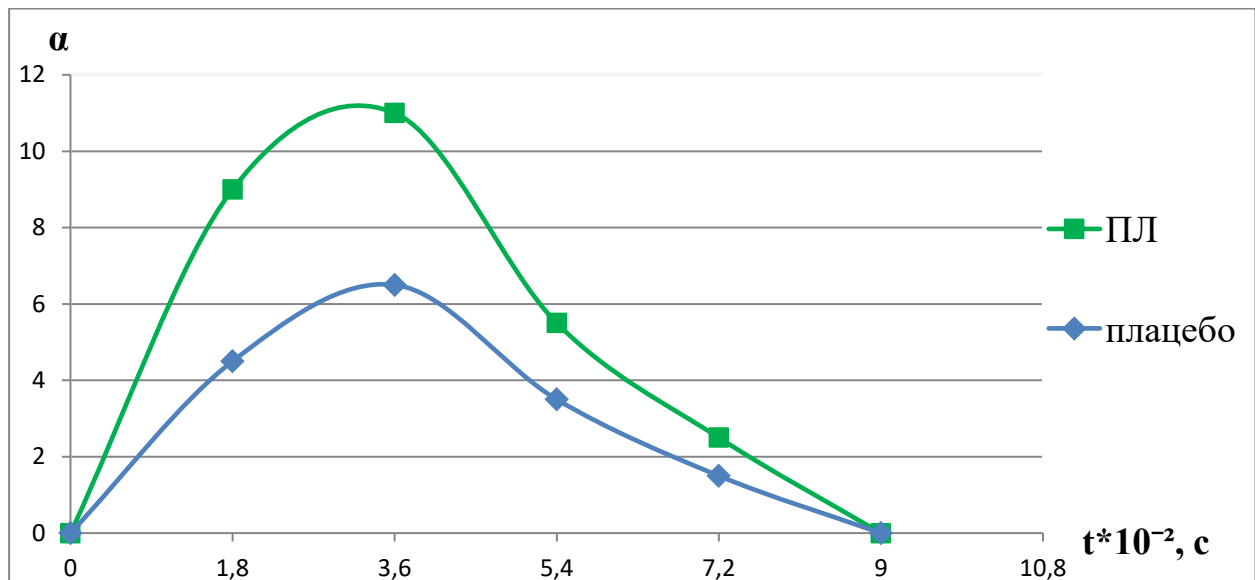


Рисунок 15 - Кинетические кривые набухания ПЛ и плацебо

Они имеют вид кривых неограниченного набухания и проходят через максимум. О предельной величине набухания говорить нельзя, так как одновременно с процессом набухания идет процесс растворения ПЛ. До значения максимума скорость набухания превышает скорость растворения, после экстремума – наоборот. Скорость набухания матриц можно сравнить по наклону касательных, проведенных к кривым через начало координат.

$$k_{\text{наб усл ПЛ}} = 3,1 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}; k_{\text{наб усл плацебо}} = 1,4 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}.$$

Большей степени набухания матрицы способствует и более высокая скорость набухания.

Изучение кинетики набухания подтверждает, что скорость набухания ПЛ значительно выше скорости набухания плацебо.

ПЛ «работают» по диффузионному механизму, поэтому вторым этапом исследовали диффузионные характеристики диализным методом с кондуктометрическим контролем, описанном в гл. 2.2.4. Поскольку при растворении ПЛ в растворитель переходят и ионы полимера была изучена кинетика растворения плацебо пленок. Кинетические кривые приведены на рисунке 16.

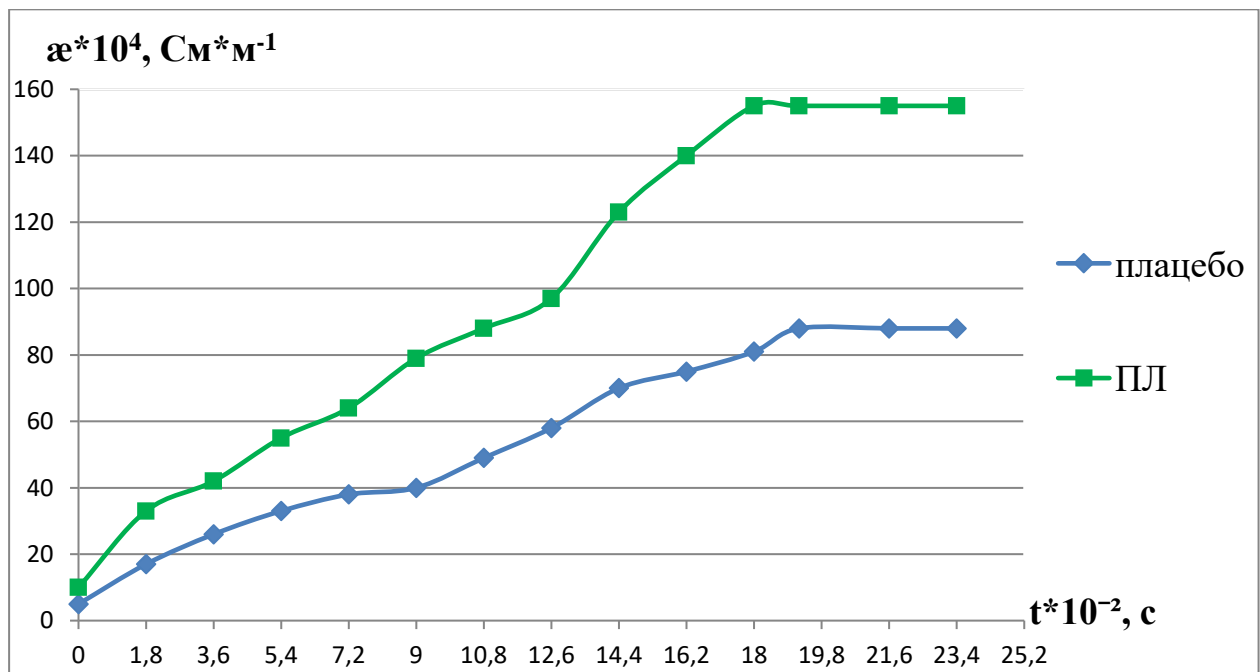


Рисунок 16 - Кинетика высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса эмали и плацебо метод диализа с кондуктометрическим контролем

Как видно из рисунка с увеличением времени эксперимента значение удельной электропроводности увеличивается, т.е. возрастает количество высвобождаемых ионов в воде.

По этим же экспериментальным данным строили дифференциальные кривые растворения ПЛ и плацебо в координатах $\Delta\kappa/\Delta t=f(t)$, представлены на рисунке 17.

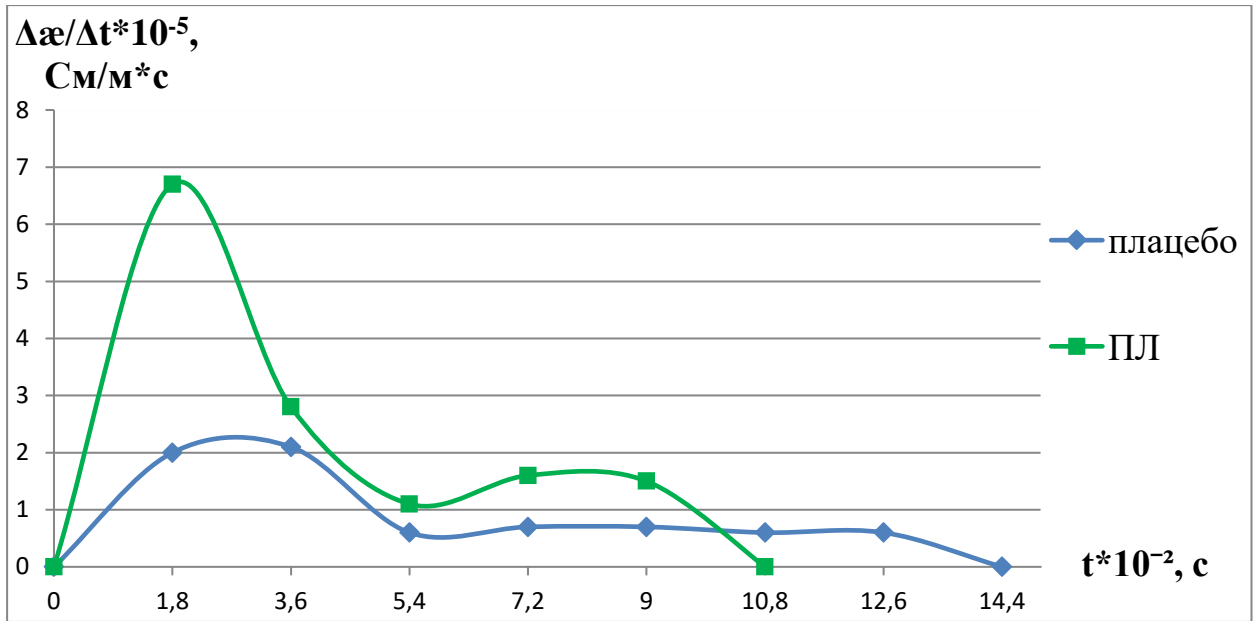


Рисунок 17 - Дифференциальные кривые растворения ПЛ и плацебо

Значение скорости растворения проходит через максимум. При этом резкое увеличение скорости наблюдается в начальный момент времени, снижение ее со временем может быть объяснено уменьшением количества активных компонентов в поверхностных слоях матрицы-носителя, что свидетельствует о принадлежности исследуемых ПЛ к матричным системам диффузионного типа.

По результатам диализа рассчитывали коэффициенты диффузии по периоду полупревращения, результаты представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Значения коэффициентов диффузии (м²/с)

Температура	k _d ПЛ	k _d Плацебо
(25±2)°C	0,57*10 ⁻¹⁴	0,50*10 ⁻¹⁴
(37±2)°C	1,24*10 ⁻¹⁴	0,99*10 ⁻¹⁴

Графически определены константы растворения ПЛ и пленок плацебо, как тангенс угла наклона к положительному направлению оси абсцисс, представлены на рисунке 18 и 19.

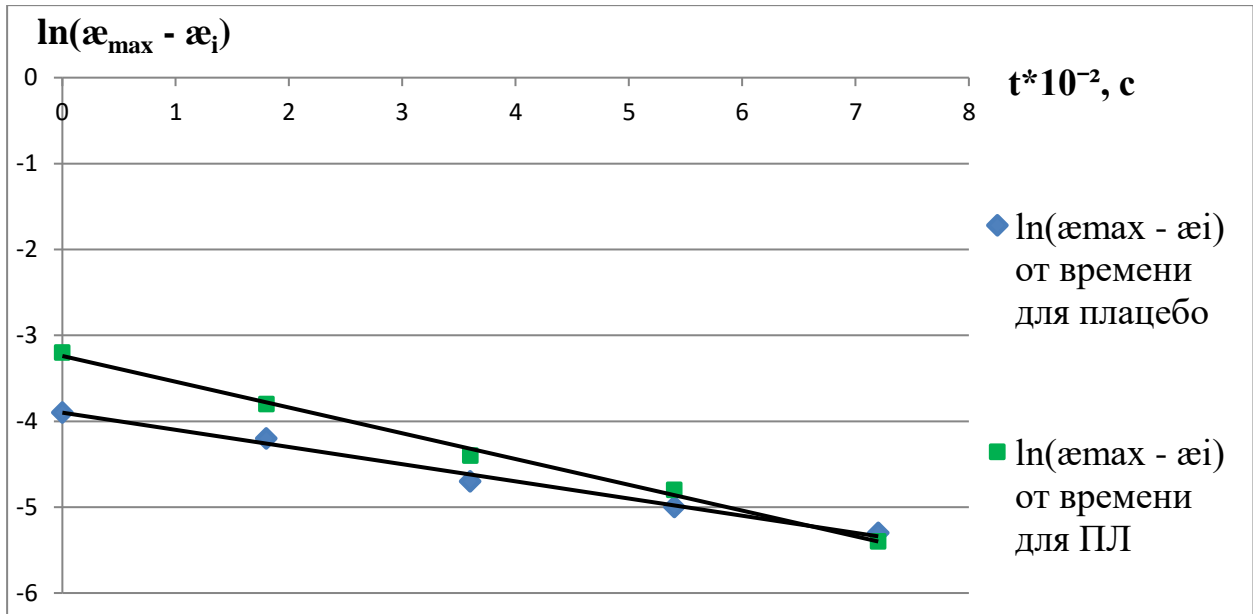


Рисунок 18 - Зависимость $\ln(a_{\max} - a_i)$ от времени (метод растворения)

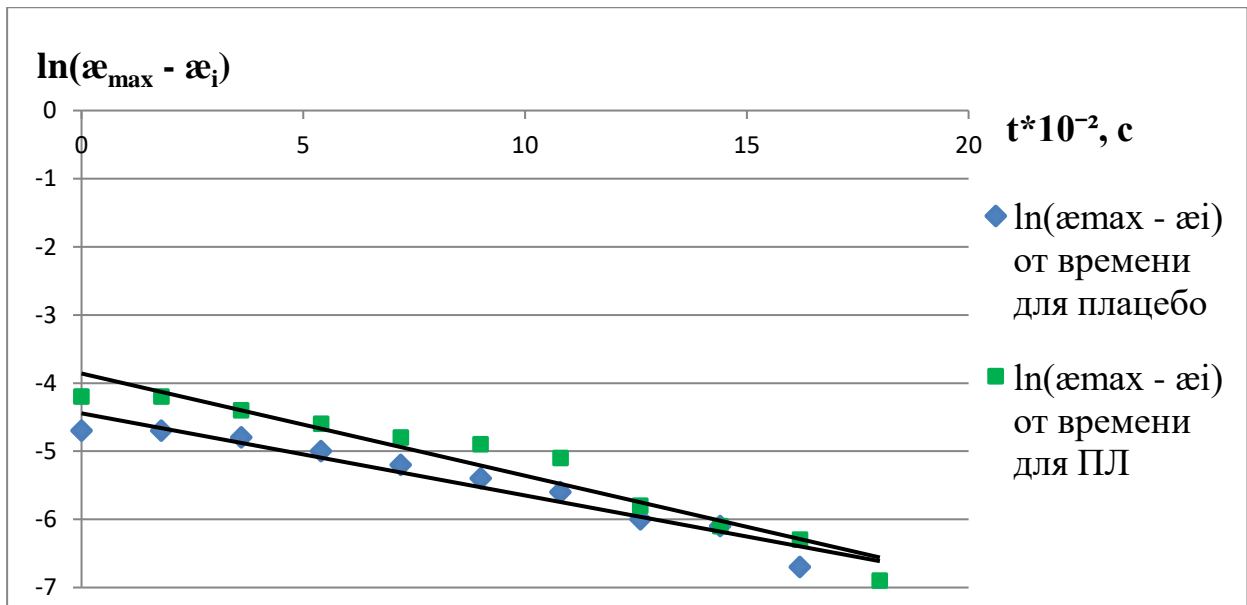


Рисунок 19 - Зависимость $\ln(a_{\max} - a_i)$ от времени (метод диализа)

Значение констант растворения составило: $k_{\text{раств пленок}}$ (без мембраны) $= 1,67 \cdot 10^{-3} \text{c}^{-1}$, $k_{\text{раств плацебо}}$ (без мембраны) $= 1,33 \cdot 10^{-3} \text{c}^{-1}$ и $k_{\text{раств пленок}}$ (с мембраной) $= 4,17 \cdot 10^{-4} \text{c}^{-1}$, $k_{\text{раств плацебо}}$ (с мембраной) $= 2,78 \cdot 10^{-4} \text{c}^{-1}$. Константы растворения ПЛ больше, чем у плацебо, что объясняется ослаблением межмолекулярных связей при введении активных компонентов.

Изучение кинетических закономерностей высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса

Для управления процессом динамики высвобождения активных компонентов из ПЛ изучали влияния таких факторов как температура, объем растворителя и перемешивание при кондуктометрическом определении, аналогично исследованию геля для лечения кариеса эмали.

Температурные зависимости приведены на рисунке 20.

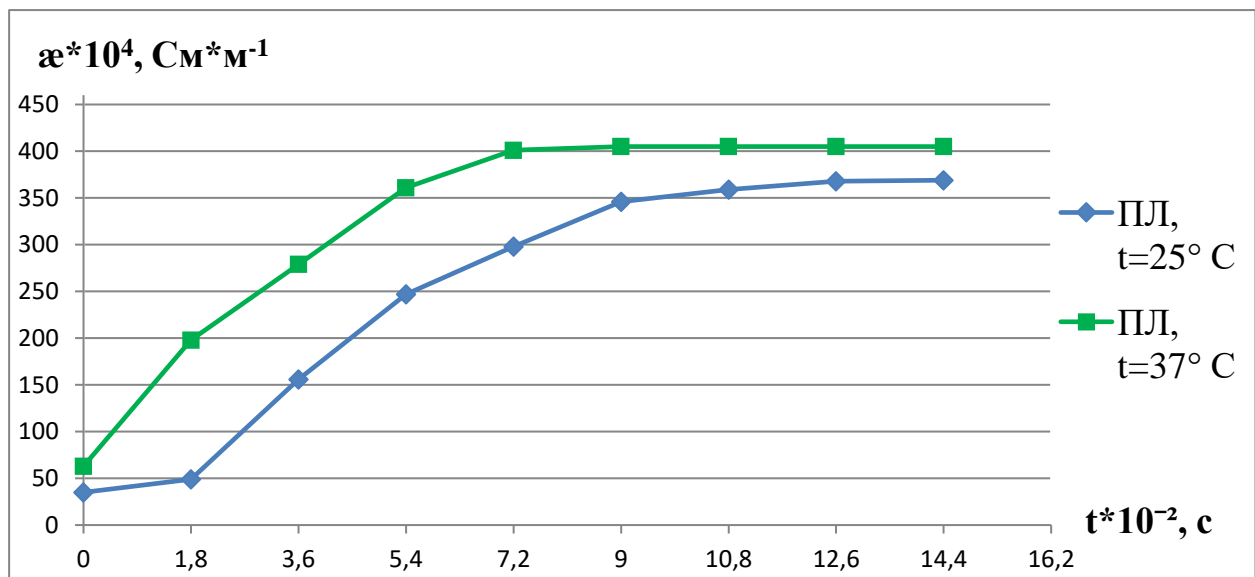


Рисунок 20 - Кинетические кривые высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса в зависимости от температуры при $V=100$ мл (метод растворения)

Увеличение температуры с $(25 \pm 2)^\circ C$ до $(37 \pm 2)^\circ C$ приводит к увеличению средней скорости растворения примерно в 2,5 раза, что также свидетельствует о диффузионном механизме высвобождения активных компонентов.

Определена энергия активации процесса растворения ПЛ 10,97 кДж/моль, по графику зависимости $\lg k = f(1/T)$, что характеризует способность системы к самопроизвольному релизу активных компонентов из ПЛ и отсутствие необходимости использования активаторов высвобождения.

Процесс растворения гетерогенный. Кинетическое сопротивление гетерогенного процесса, протекающего через ряд последовательных стадий, равно сумме кинетических сопротивлений его стадий:

$$1/k = 1/k_k + 1/k_d, \text{ где}$$

k – константа скорости суммарного процесса;

k_k – константа скорости кинетической стадии процесса;

k_d – константа скорости диффузионной стадии процесса (коэффициент диффузии).

Лимитирующей является стадия, имеющая наибольшее кинетическое сопротивление. Сравнив константы растворения и диффузии, можно сделать вывод, что скорость процесса растворения лимитируется процессом диффузии, так как значения сопротивления у этого процесса значительно больше.

Результаты исследования влияния объема растворителя на скорость растворения представлены на рисунке 21.

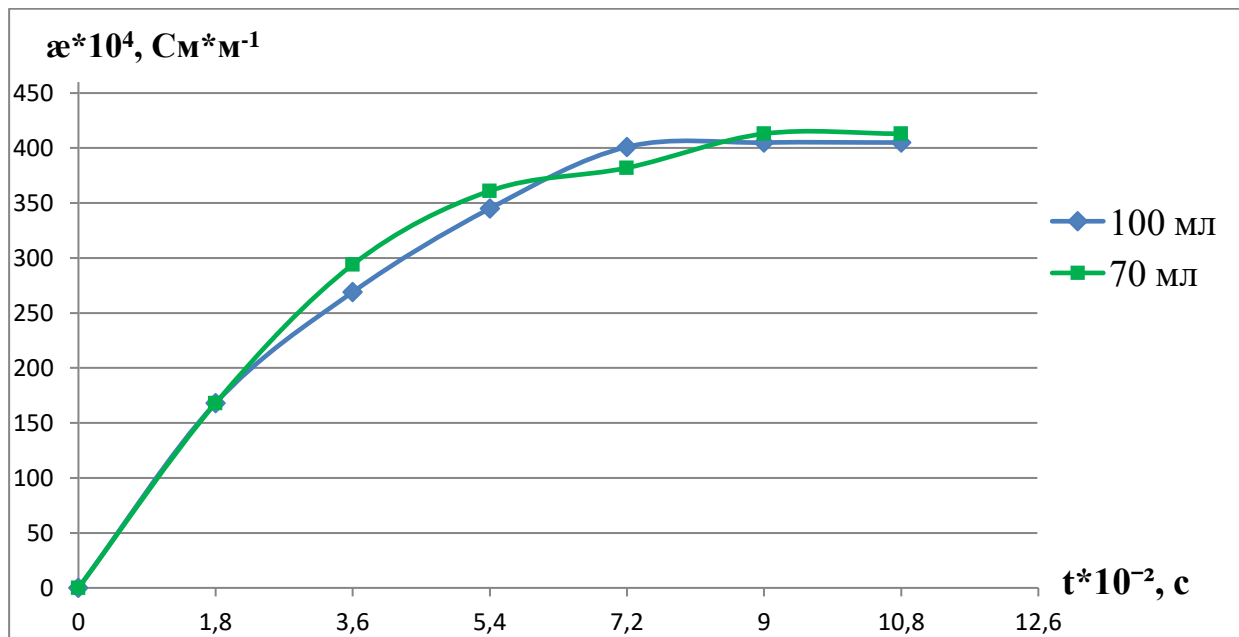


Рисунок 21 - Кинетические кривые высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса эмали в зависимости от объема растворителя (метод растворения), $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$

Объем растворителя в выбранных условиях проведения эксперимента не влияет на высвобождение активных компонентов.

При перемешивании скорость высвобождения ионов значительно выше, чем без перемешивания, результаты исследования влияния перемешивания на скорость растворения представлены на рисунке 22.

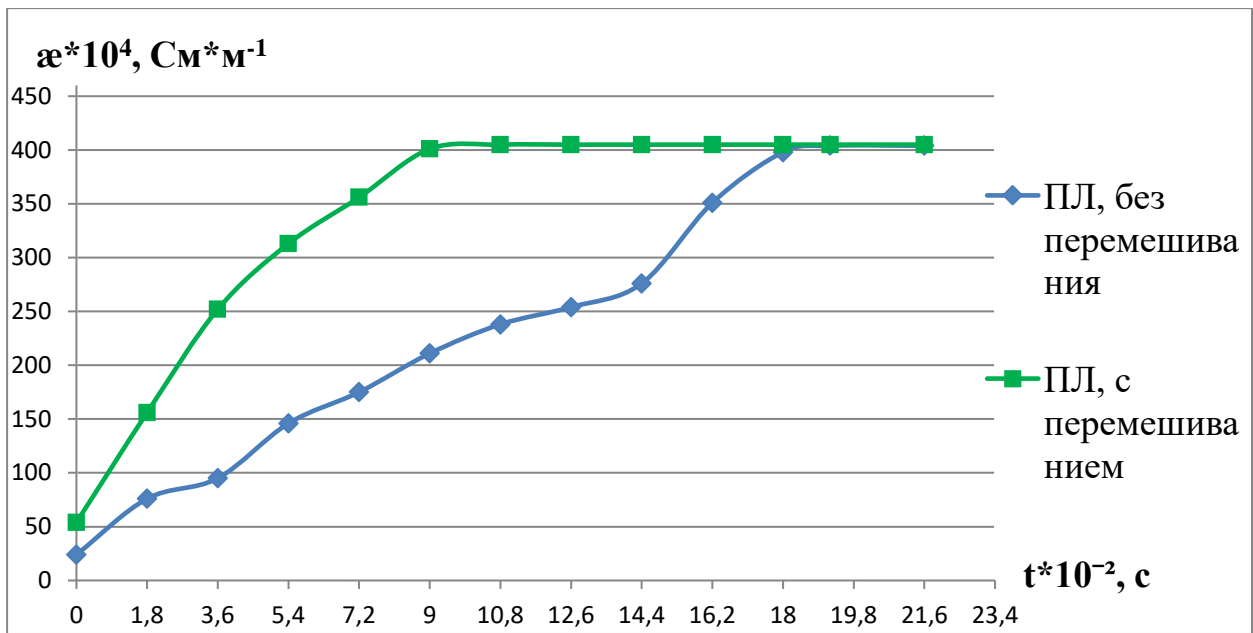


Рисунок 22 - Кинетические кривые высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса эмали в зависимости от перемешивания при, $V=100$ мл (метод растворения), $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$

Скорость гетерогенных процессов сильно зависит от перемешивания, так как при этом выравниваются концентрации в большей части объема. В нашем случае перемешивание значительно увеличивает скорость релиза.

Изучение влияния различных факторов на процесс высвобождения дает обоснование процесса растворения. При контакте с растворителем происходит набухание поверхностного слоя полимера, молекулы воды проникают внутрь полимерной матрицы, раздвигая ее цепи, увеличивая объем, активные компоненты при контакте с жидкостью растворяются и образуют сеть пор в матрице.

Таким образом на основании анализа литературных данных, а также проведенных реологических и биофармацевтических исследований, разработан состав ПЛ для лечения кариеса эмали с учетом основных требований реминерализующей терапии, работающих по диффузному механизму и обеспечивающих полное высвобождения действующих веществ.

4.2. Разработка технологии пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Разработана технология ПЛ для изготовления в условиях аптечных организаций, технология апробирована в условиях производственной аптеки МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России г. Перми (приложение 5). Технологическая схема изготовления ПЛ соответствует традиционным подходам и имеет следующие особенности технологических операций. ТП 3. Изготовление поливочного раствора - на этой стадии необходимо соблюдать последовательность, скорость введения компонентов, скорость перемешивания и интервал гомогенизации. На стадии ТП 4. Получение ПЛ необходимо соблюдать массу и толщину слоя поливочного раствора, время и температуру сушки. В таблице 15 представлены критические стадии при изготовлении ПЛ.

Таблица 15 – Критические стадии при изготовлении пленок лекарственных

Стадия	Элемент операции	Наименование
Изготовление поливочного раствора	Перемешивание раствора Гомогенизация	Порядок введения растворов ЛС Скорость перемешивания, об/мин Интервал между введением растворов
Нанесение и сушка поливочного раствора	Нанесение и сушка поливочного раствора	Температура сушки, °С Толщина высушенного полотна ПЛ, мм
Фасовка, упаковка и маркировка готовой продукции	Нарезка и фасовка пленок	Ширина ролика при нарезке, мм Масса ПЛ в упаковке, г Масса ПЛ, г

Изготовление ПЛ в условиях аптечных организаций проводили в соответствии с требованиями санитарного режима, регламентированного нормативной документацией [89]. Технологическая схема изготовления ПЛ для лечения кариеса эмали представлена на рисунке 23.

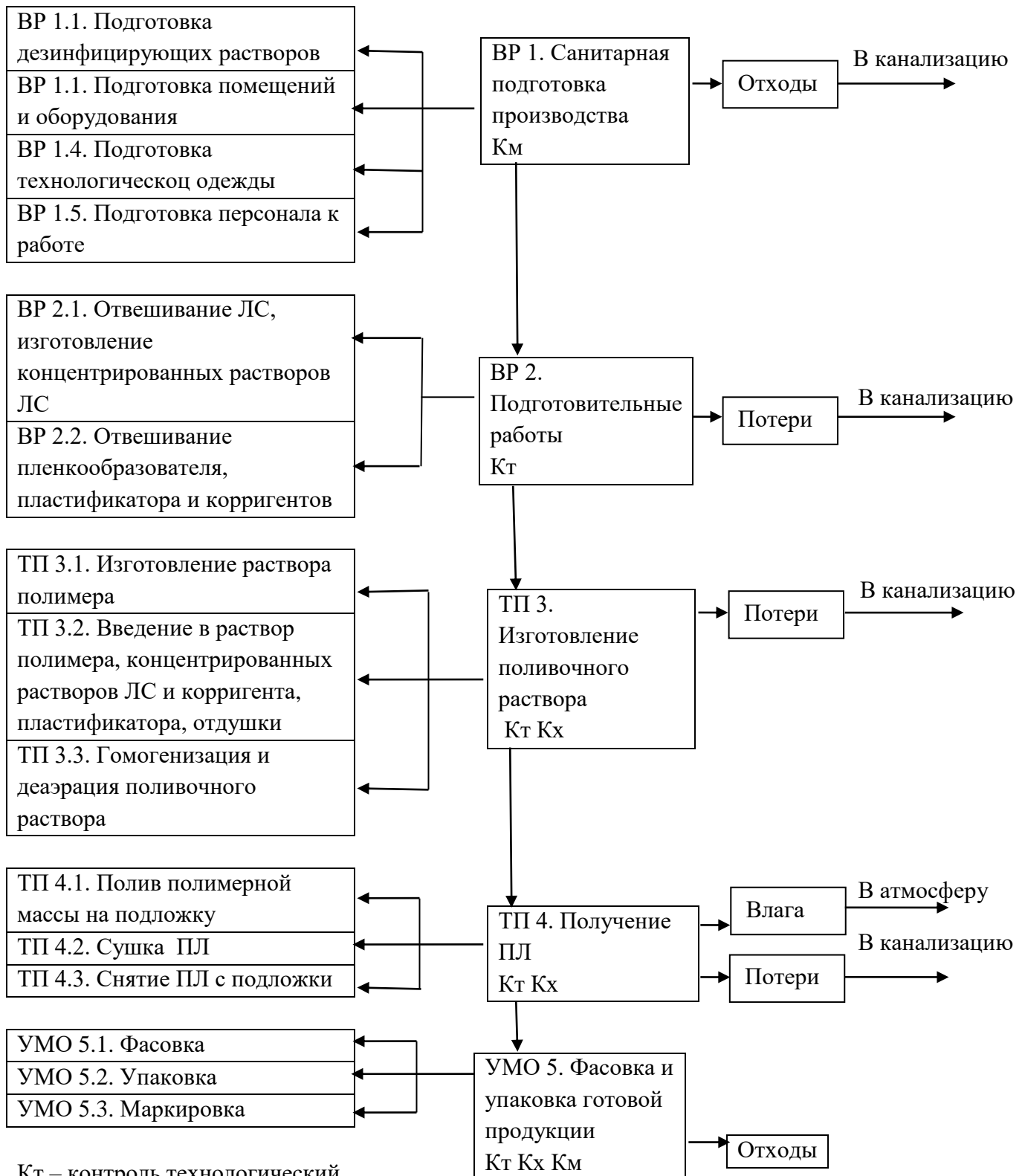


Рисунок 23 - Технологическая схема изготовления ПЛ для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций

ВР 1. Санитарная подготовка производства. Подготовка оборудования, помещения, персонала и вспомогательного материала, осуществляемая в

соответствии с Приказом №309 от 21.10.97 «Об утверждении инструкции по санитарному режиму аптечных организаций».

ВР 2. Подготовительные работы включают в себя отвешивание кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида, корригентов, пленкообразователя и пластификатора, изготовление концентрированных растворов ЛС. Изготовление концентрированных растворов проводится по методикам, описанным в разделе 3.2., за исключение раствора ксилита. ксилита раствор 2% готовят, отвешивая 2,0 г ксилита на весах с точностью до 0,01 г и количественно перенося в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем до метки водой очищенной (концентрацию раствора не определяют, т.к. является вспомогательным веществом). Далее последовательно отвешивают пленкообразователь (натрий-КМЦ), пластификатор и корригент на весах с точностью до 0,01 г и 2,0 г глицерина.

ПП 3. Изготовление поливочного раствора. ПЛ готовят методом полива пленочной массы. Технология обеспечивает возможности включения активных компонентов в виде растворов в полимер – носитель натрий-КМЦ и, после удаления растворителя, получение гомогенной пленки. 86 мл воды очищенной нагревают до температуры 50 - 60°C. Воду переносят в емкость для изготовления поливочного раствора, с мешалкой якорного типа и при перемешивании добавляют небольшими порциями натрий-КМЦ, ровно распределяя его по поверхности во избежание образования комков. Полученный раствор гомогенизируют до исчезновения комочков. После набухания полимера и получения однородной массы для пластификации пленочной основы вводят 2,0 глицерина. Растворы ЛС добавляют медленно по каплям со скоростью 2-3 мл/мин тщательно гомогенизируя с интервалом 10 минут при непрерывном перемешивании со скоростью 90-100 об/мин: 3,65 мл калия фосфата двузамещенного раствора 25%, 0,93 мл кальция хлорида раствора 55%, 0,67 мл натрия фторида раствора 2%. Затем добавляют 6,67 мл ксилита раствора 0,2%, тщательно гомогенизируют 10-20 минут. Деаэрацию поливочного раствора проводят путем отстаивания смеси в течение 30-40 мин при комнатной

температуре до исчезновения пузырьков воздуха. При необходимости раствор фильтруют.

ТП 4. Получение ПЛ. Поливочный раствор разливают на сухие, предварительно взвешенные подложки. Подложки заполняют поливочным раствором массой 28 г. Высота поливочного слоя 5 мм. Сушку проводят в сушильном шкафу с калорифером и принудительной вентиляцией воздуха при температуре 40-45°C в течение 16 часов. Полученная ПЛ легко снимается, не имеет трещин, пузырьков, эластична. Осуществляется отбраковка по внешнему виду ПЛ. Размер ПЛ зависит от области поражения.

УМО 5. Фасовка и упаковка готовой продукции.

ПЛ фасуют в полиэтиленовые пакеты (ГОСТ 10-354-82), запаянные методом термосваривания, по 10 терапевтических доз и наносят штамп с номером партии и датой изготовления и оформляют к отпуску в соответствии с приказом МЗ РФ №751н "Об утверждении правил изготовления и отпуска ЛП для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность». Во время проведения операции проводится визуальный контроль чистоты, качества и герметичности упаковки. Отбракованные упаковки утилизируют.

Контроль качества осуществляют также в соответствии с приказом МЗ РФ №751н [88].

ПЛ подлежат обязательному письменному, органолептическому и контролю при отпуске.

1. Письменный контроль заключается в проверке правильности заполнения паспорта письменного контроля, в котором должны быть указаны:

- а) дата изготовления ЛП;
- б) номер рецепта или требования;
- в) наименование медицинской организации, название отделения (при наличии); номер серии;
- г) наименования взятых ЛС в и их количества, число доз, подписи лиц, изготовившего, расфасовавшего и проверившего ЛФ.

Паспорт письменного контроля заполняется сразу после изготовления ЛП, с указанием ЛС на латинском языке, в соответствии с последовательностью технологических операций. Паспорта письменного контроля хранятся в течение двух месяцев со дня изготовления лекарственных препаратов. Контроль заключается в проверке соответствия записей в паспорте письменного контроля назначениям в рецепте или требовании, правильности произведенных расчетов.

2. Органолептический контроль является обязательным видом контроля и заключается в проверке ЛП по внешнему виду, запаху, однородности смешивания. Однородность проверяется выборочно у каждого фармацевта (провизора) в течение рабочего дня с учетом всех видов изготовленных ЛФ.

3. Контролю при отпуске ЛП подвергаются все изготовленные ЛП, в рамках которого проверяется соответствие:

а) упаковки ЛП физико-химическим свойствам, входящих в него лекарственных средств;

б) указанных в рецепте или требовании доз наркотических средств, психотропных, сильнодействующих веществ возрасту пациента;

в) реквизитов рецепта, требования сведениям, указанным на упаковке изготовленного лекарственного препарата;

г) маркировки ЛП.

4. Физический контроль заключается в проверке общей массы ЛП, количества и массы отдельных доз (не менее трех доз), входящих в ЛП (предельные отклонения ПЛ не должны превышать при массе до 0,1 г $\pm 10\%$).

5. Химический контроль. Качественному анализу подвергаются выборочно ЛП различных лекарственных форм, изготовленные фармацевтом (провизором) в течение рабочего дня, но не менее 10% от общего количества изготовленных каждым фармацевтом лекарственных препаратов, кроме гомеопатических. Качественному и количественному анализу (полный химический контроль) подвергаются в обязательном порядке ЛФ, изготовленные по рецептам и требованиям, в количестве не менее трех лекарственных форм при работе в одну смену с учетом различных видов ЛФ.

б. Опросный контроль осуществляется выборочно и проводится после изготовления фармацевтом (провизором) не более пяти ЛФ.

При выявлении одного из указанных несоответствий изготовленный ЛП не подлежит отпуску.

4.3. Стандартизация и изучение стабильности в процессе хранения пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Стандартизацию ПЛ для лечения кариеса эмали проводили по показателям «Подлинность» и «Количественное определение» действующих компонентов, «Микробиологическая чистота», рН и технологическим параметрам: толщина, средняя масса, время растворения и потеря в массе при высушивании ПЛ.

При разработке методик качественного и количественного анализа за основу взяты методы для определения субстанций, модифицированные с учетом специфики ЛФ.

В связи с отсутствием стандарта качества на ПЛ как на ЛФ при стандартизации ПЛ опирались на многолетние исследования по разработке составов, технологии и стандартизации ПЛ, на основе которых сформулированы медико-фармацевтические требования к аппликационным ЛФ [6, 15, 28, 66, 115].

4.3.1. Валидация методик подлинности количественного определения активных компонентов пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Стандартизация предусматривает валидационную оценку методик, предназначенных для контроля качества ЛС. Валидация проводилась в соответствии с характеристиками ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» под руководством доцента кафедры фармацевтической химии факультета дополнительного профессионального образования и факультета заочного обучения Березиной Е.С. [30].

Исследовали валидационные характеристики методик испытания на подлинность путем определения их специфичности на модельных смесях известного состава (полный состав ПЛ, пленки плацебо и смеси с чередующимися

активными компонентами). На основании проведенного исследования выбраны методики определения подлинности, представленные в гл. 2.2.1., которые характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на модельных смесях свободных от определяемого компонента и плацебо, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент.

Далее проводили валидацию методик количественного определения кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в ПЛ для лечения кариеса эмали согласно методикам, описанным в гл. 2.2.2.

Специфичность исследовали в трех параллелях на модельных смесях с чередующимися компонентами от заявленного состава, результаты представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Результаты исследования специфичности методик количественного определения компонентов ПЛ (количество содержания компонентов на СТД 0,05 г)

Состав модельной смеси	$CaCl_2$		K_2HPO_4		NaF	
	заявлено	найдено	заявлено	найдено	заявлено	найдено
ПЛ: $CaCl_2$, K_2HPO_4 , NaF	0,00382 5 $\pm 0,0001$ 5	0,003921 $\pm 0,000153$	0,006660 $\pm 0,00038$	0,006783 $\pm 0,00039$	0,000100 $\pm 0,000003$	0,000102 $\pm 0,000003$
ПЛ: $CaCl_2$	0,00382 5 $\pm 0,0001$ 5	0,003810 $\pm 0,000149$	-	-	-	-
ПЛ: K_2HPO_4	-	-	0,006660 $\pm 0,00038$	0,006664 $\pm 0,00038$	-	-

ПЛ: NaF	-	-	-	-	0,000100 ±0,000003	0,000100 ±0,000003
ПЛ: CaCl ₂ , K ₂ HPO ₄	0,00382 5 ±0,0001 5	0,003933 ±0,000154	0,006660 ±0,00038	0,006536 ±0,00037	-	-
ПЛ: CaCl ₂ , NaF	0,00382 5 ±0,0001 5	0,003900 ±0,000152	-	-	0,000100 ±0,000003	0,000101 ±0,000003
ПЛ: K ₂ HPO ₄ , NaF	-	-	0,006660 ±0,00038	0,006400 ±0,00036	0,000100 ±0,000003	0,000100 ±0,000003

Доверительные интервалы составили: для кальция хлорида $0,003891 \pm 0,000089$ г, для калия фосфата двузамещенного $0,006596 \pm 0,000262$ г и для натрия фторида $0,000101 \pm 0,000002$ г, что соответствует критериям приемлемости, следовательно, методики количественного определения активных компонентов ПЛ являются специфичными.

Линейность методик исследовалась в трех параллелях на модельных смесях в интервале от 70% до 130% от заявленного содержания активных компонентов. Результаты представлены графически на рисунках 24 и 25 в виде зависимости расхода титранта для титриметрических методов анализа и оптической плотности для фотоэлектроколориметрического метода от содержания исследуемого компонента.

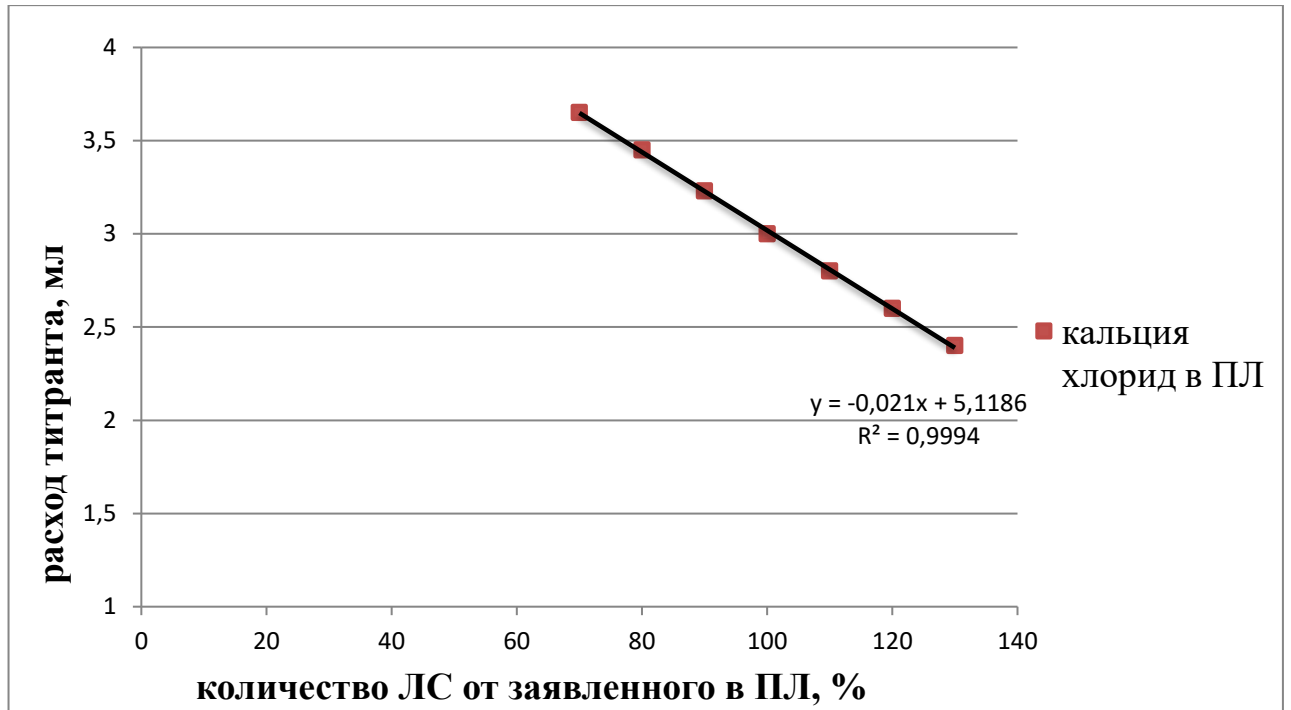


Рисунок 24 - Зависимость расхода титранта (мл) от количества кальция хлорида при титриметрическом определении на модельных смесях в диапазоне от 70 до 130% от заявленного количества

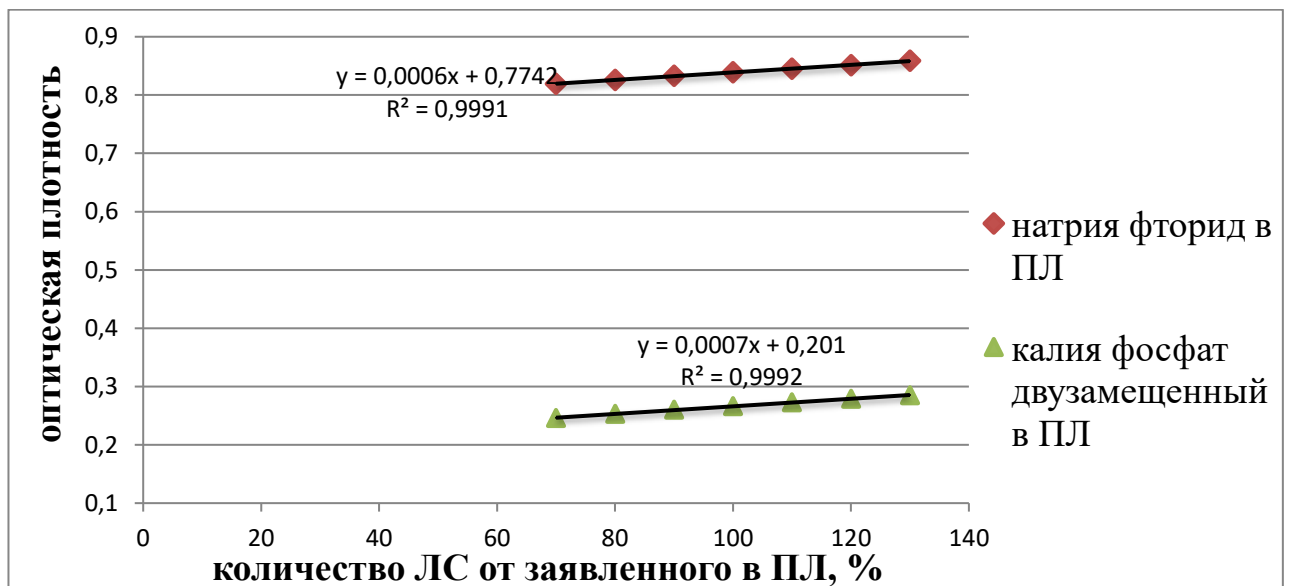


Рисунок 25 - Зависимость оптической плотности от количества натрия фторида и калия фосфата двузамещенного при фотоэлектроколориметрическом определении на модельных смесях в диапазоне от 70 до 130% от заявленного количества

Коэффициент корреляции регрессионного графика R составил: для натрия фторида в пленках - 0,9991; кальция хлорида в ПЛ – 0,9994; для калия фосфата двузамещенного в пленках – 0,9992.

На основании полученных результатов можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость между величинами аналитических сигналов и содержанием исследуемых компонентов в ПЛ для лечения кариеса эмали в интервале 70-130% от декларируемого количества. Этот интервал можно определить, как аналитическую область методики.

Правильность методик устанавливали по результатам анализа модельных смесей в трех параллелях определения для 7 аналитических концентраций в интервале от 70 до 130 % от декларируемого состава. Результаты определения правильности методик представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Оценка правильности методик количественного определения компонентов ПЛ (количество содержания компонентов на СТД ПЛ 0,05 г)

ОЦЕНКА ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИК									
	Состав модельной смеси, г			Найдено, г			Z_i , %		
	$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF	$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF	$CaCl_2$	K_2HPO_4	NaF
70	0,0027 ±0,0001	0,0047 ±0,0003	0,000070 ±0,000002	0,0027 ±0,0001	0,0046 ±0,0003	0,000069 ±0,000002	100,0	99,5	98,6
80	0,0031 ±0,0001	0,0053 ±0,0003	0,000080 ±0,000002	0,0031 ±0,0002	0,0053 ±0,0003	0,000081 ±0,000002	100,0	100,2	101,3
90	0,0034 ±0,0001	0,0059 ±0,0003	0,000090 ±0,000003	0,0034 ±0,0002	0,0059 ±0,0003	0,000089 ±0,000003	100,0	99,5	98,9
100	0,0038 ±0,0001	0,0067 ±0,0004	0,000100 ±0,000003	0,0039 ±0,0002	0,0068 ±0,0004	0,000102 ±0,000003	102,6	101,5	102,1
110	0,0042 ±0,0002	0,0073 ±0,0004	0,000110 ±0,000003	0,0043 ±0,0002	0,0074 ±0,0003	0,000108 ±0,000003	102,3	100,7	98,2
120	0,0046 ±0,0002	0,0079 ±0,0005	0,000120 ±0,000003	0,0047 ±0,0002	0,0079 ±0,0005	0,000122 ±0,000003	102,2	99,5	101,7
130	0,0050 ±0,0002	0,0087 ±0,0005	0,000130 ±0,000004	0,0049 ±0,0002	0,0086 ±0,0005	0,000133 ±0,000004	98,0	98,9	102,3

Из результатов, представленных в таблице 17, видно, что отношение «найдено : введено» (Z_i) находится в интервале 97-103%. Отклонение \bar{Z} от 100% не превышает доверительный интервал $\delta\% = |0,380952381| \leq 0,984867579$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методик.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность методик характеризуется степенью совпадения результатов индивидуальных определений при многократном использовании в условиях работы одной лаборатории [11, 30, 77]. Результаты количественного определения действующих веществ в ПЛ для лечения кариеса эмали представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Результаты количественного определения компонентов ПЛ (количество содержания компонентов на СТД 0,05 г)

Активный компонент	Серия	Метрологические характеристики				
		X, г	\bar{X} , г	S, г	\mathcal{E} , %	$\bar{\mathcal{E}}$, %
Калия фосфат двузамещенный	1	0,00667	0,00680	0,00015	6,346	2,782
	2	0,00661			6,403	
	3	0,00691			6,125	
	4	0,00694			6,099	
	5	0,00689			6,143	
Кальция хлорид	1	0,00406	0,00407	0,00011	7,692	3,433
	2	0,00419			7,454	
	3	0,00393			7,947	
	4	0,00399			7,827	
	5	0,00417			7,489	
Натрия фторид	1	0,000100	0,000101	0,000002	4,888	2,171
	2	0,000103			4,746	
	3	0,000099			4,958	
	4	0,000100			4,888	
	5	0,000102			4,793	

Доверительные интервалы составили: для кальция хлорида $0,00407 \pm 0,00014$ г, для калия фосфата двузамещенного $0,00680 \pm 0,00019$ г и для натрия фторида $0,000101 \pm 0,000002$ г, по представленным параметрам (величины стандартного отклонения, доверительный интервал), можно сделать заключение о прецизионности исследуемых методик под влиянием внутрилабораторных вариаций. Данные методики могут быть использованы для количественного определения кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в диапазоне концентраций от 70 до 130% от декларируемого количества

4.3.2. Испытание на подлинность и количественное определение активных компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали

Подлинность

Методики испытания на подлинность кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в ПЛ описаны в гл. 2.2.1.

Подлинность компонентов ПЛ проводили характерными реакциями на катионы и анионы: на катион кальция использовали реакцию с серной кислотой разведенной 9,8%; на хлорид ион реакцию с серебра нитратом раствором 2% в присутствии азотной кислоты разведенной 16%; на катион калия применяли реакцию с натрия кобальтинитритом раствором 10% в среде уксусной кислоты разведенной 30%; на фосфат ион использовали реакцию с аммония молибдатом раствором в серной кислоте концентрированной и олова хлоридом раствором 1% в среде серной кислоты раствором 50%; на катион натрия использовали микрокристаллоскопическую реакцию с раствором калия пуроантимоната и на фторид ион реакцию с цирконил-ализариновым комплексом

Количественное определение

Количественное определение проводили по методикам, описанным в главе 2.2.2. Количественное определение кальция хлорида проводили обратным комплексометрическим методом. Для количественного определения калия фосфата двузамещенного в ПЛ использовали фотоэлектроколориметрический метод, для получения окрашенного раствора использовали реакцию образования

комплекса фосфат-молибдат аммония желто-зеленого цвета, расчет проводили по рабочему стандартному образцу. Для количественного определения натрия фторида в ПЛ использовали фотоэлектроколориметрический метод, в качестве цветной реакции использовали реакцию с цирконил-ализариновым комплексом, расчет вели по рабочему стандартному раствору. Результаты количественного определения действующих веществ в ПЛ представлены в таблице 19.

Таблица 19 - Результаты количественного определения действующих веществ в ПЛ для лечения кариеса эмали (количество содержания компонентов на СТД 0,05 г)

Активный компонент	Серия	Метрологические характеристики					
		X , г	\bar{X} , г	S , г	$\Delta\bar{X}$	ε , %	$\bar{\varepsilon}$, %
Калия Фосфат двузаме- щенный	1	0,00667	0,00680	0,00015	0,00019	6,346	2,782
	2	0,00661				6,403	
	3	0,00691				6,125	
	4	0,00694				6,099	
	5	0,00689				6,143	
Кальция хлорид	1	0,00406	0,00407	0,00011	0,00014	7,692	3,433
	2	0,00419				7,454	
	3	0,00393				7,947	
	4	0,00399				7,827	
	5	0,00417				7,489	
Натрия фторид	1	0,000100	0,0001007	0,000002	0,000002	4,888	2,171
	2	0,000103				4,746	
	3	0,000099				4,958	
	4	0,000100				4,888	
	5	0,000102				4,793	

Содержание в ПЛ кальция хлорида должно находиться в пределах [0,00304-0,00456] г, калия фосфата двузамещенного [0,00536-0,00804] г и натрия фторида [0,00008-0,00012] г, на массу ПЛ СТД 1x2 см (0,05 г).

4.3.3. Исследование технологических и физико-химических параметров пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

С целью стандартизации ПЛ проведено определение рН и технологических параметров: средняя масса, размеры и толщина, время растворения, и потеря в массе при высушивании методики определения которых описаны в гл. 2.2.3.

ПЛ представляют собой плоские, однородные, эластичные пластинки без механических включений, пузырьков, микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета.

В процессе стандартизации ПЛ по технологическим параметрам получены следующие результаты.

Толщина ПЛ определяет степень адгезии и равномерный контакт с поверхностью зуба. Определение производили в средней пробе с помощью микрометра марки КМС-25, толщина не должна превышать 0,5 мм. Толщина ПЛ составила в среднем $0,212 \pm 0,004$ мм. Размеры сторон СТД ПЛ составили $10 \times 20 \pm 0,5$ мм

Средняя масса ПЛ влияет на точность дозирования, её определяли путем взвешивания образцов ПЛ на аналитических весах. Средняя масса одной ПЛ должна составлять 0,05 г, отклонение в массе допускается $\pm 10\%$. Средняя масса средней терапевтической дозы площадью 10×20 мм составила $0,0520 \pm 0,0001$.

Время растворения определяли путем растворения образца ПЛ в воде очищенной при комнатной температуре и периодическом встряхивании, секундомером измеряли время до полного растворения ПЛ. Время растворения для ПЛ составило $30 \pm 0,02$ мин.

Значение рН водного раствора ПЛ должно находиться в пределах от 6,8 до 8,5, что соответствует оптимальному значению рН слюнной жидкости, определение рН проводили методом потенциометрии. Изменение этого показателя корректирует баланс минерального равновесия в полости рта и способствуя минерализации твердых тканей зуба. Значение рН водного раствора ПЛ составило $7,20 \pm 0,05$.

Потерю в массе при высушивании определяли методом высушивания в течении 5 часов в сушильном шкафу при температуре 100-105°C. Оптимальные значения находятся в пределах 6-12%, меньшие значения приводят к хрупкости ПЛ, большие к липкости. Потеря в массе при высушивании для ПЛ составила $7,6\% \pm 0,4$.

В результате проведенных исследований установлены нормы качества ПЛ для лечения кариеса эмали по показателям «Подлинность», «Количественное определение» действующих веществ, рН и технологическим параметрам. Установленные показатели свидетельствуют об удовлетворительном качестве исследуемых ПЛ и могут являться критериями оценки их доброкачественности при поэтапном контроле в процессе производства и контроле качества конечного продукта.

4.3.4. Исследование микробиологической чистоты пленок лекарственных для лечения кариеса эмали

Согласно ОФС.1.2.4.0001.15 «Микробиологическая чистота» препараты для местного, наружного применения относятся к категории 2 и должны соответствовать следующим требованиям: общее число аэробных бактерий и дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) – не более 10^2 КОЕ в 1,0 г препарата, при отсутствии *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Результаты исследования микробиологической чистоты ПЛ для лечения кариеса эмали представлены в таблице 20. По результатам, представленным в таблице, следует, что ПЛ для лечения кариеса эмали соответствует требованиям ОФС.1.2.4.0001.15 по показателям общего микробного числа и не содержат бактерии группы кишечной палочки, золотистого стафилококка и синегнойной палочки и может использоваться как местный препарат.

Таблица 20 - Результаты исследования микробиологической чистоты ПЛ для лечения кариеса эмали

№ сер ии	Количество колоний в 1,0 г образца		Наличие/ отсутствие в 1,0 г образца		
	аэробных бактерий	грибов (дрожжи и плесни)	<i>сем. Enterobacteria ceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococ us aureus</i>
1	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
2	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
3	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
4	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует
5	<100	<100	отсутствует	отсутствует	отсутствует

Результаты оценки качества ПЛ для лечения кариеса эмали на пяти сериях по внешнему виду, качественному, количественному анализу, технологическим параметрам и микробиологической чистоте представлены в таблице 21. Полученные данные свидетельствуют о соответствии ПЛ нормируемым требованиям.

Таблица 21 - Результаты стандартизации ПЛ для лечения кариеса эмали

№ сер ии	описание	технологические параметры					подлинность						количественное определение			микро биолог ическа я чистот а
		толщи на, мм	средняя масса, г	время раство рения, мин	pH	потер я в массе при высу шива нии. %	Ca ⁺² с серной кислот ой развед енной 9,8%	Cl ⁻ с сереб ра нитра том раств ора 2%	K ⁺ с натрия кобаль тинитр итом раство ра 10%	HPO ₄ ⁻² с аммония молибдато м р-ра в серной к- те конц. И олова хлоридом р-ра 1%	Na ⁺ с раство ром калия пироан тимона та	F ⁻ с цирconi л- ализари новым комплек сом	CaCl ₂ с комплек сономет рически й метод	K ₂ HPO ₄ с фотоэле ктрокол ориметр ический метод	NaF с фотоэлект роколори метрическ ий метод	
Нормируемые требования																
	плоские, однородные, эластичные пластинки без механических включений, пузырьков, микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета	не более 0,5 ±0,004	до 0,1 г ±10%	-	6,8- 8,5	6-12	криста ллы гипса в вид пучков , звезд или отдель ных игл	белы й творо жист ый осадо к, Р в амми ака р- ре 10%	желты й криста лличес кий осадок	желто- зеленое окрашива ние	криста ллы в виде призм	изменен ие окраски раствора от красно- фиолето вой до желтой	0,0038± 0,000038	0,0067± 0,00067	0,0001± 0,00002	не более 10 ² КО Е в 1,0 г
1	Соотв.	0,212 ± 0,004	0,0550 ±0,0001	25 ±0,02	7,18± 0,05	7,26 ±0,41	соотв.	соотв. .	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,00418 ±0,00016	0,0073 ±0,00042	0,000105± 0,000003	<100
2	Соотв.	0,205 ± 0,004	0,0515 ±0,0001	25 ±0,02	7,24± 0,05	7,28 ± ,42	соотв.	соотв. .	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,00367 ±0,00014	0,0070 ±0,00039	0,000100± 0,000003	<100
3	Соотв.	0,197 ±0,004	0,0488 ±0,0001	23 ± 0,02	7,15± 0,05	7,90 ±0,45	соотв.	соотв. .	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,00360 ±0,00014	0,0068 ±0,00039	0,000097± 0,000003	<100
4	Соотв.	0,210 ±0,004	0,0523 ±0,0001	24 ±0,02	7,20± 0,05	7,56 ±0,43	соотв.	соотв. .	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,00408 ±0,00016	0,0070 ±0,00039	0,000102± 0,000003	<100
5	Соотв.	0,195 ± 0,004	0,0469 ±0,0001	24 ±0,02	7,16± 0,05	8,03 ±0,46	соотв.	соотв. .	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,00365 ±0,00014	0,0062 ±0,00035	0,000100± 0,000003	<100

4.3.5. Исследование стабильности пленок лекарственных для лечения кариеса эмали в процессе хранения

Стабильность ПЛ для лечения кариеса эмали определяли путем оценки технологических и физико-химических показателей, подлинности и количественного определения действующих веществ, микробиологической чистоты методом долгосрочных испытаний стабильности при температуре от 15 до 25°C и относительной влажности не более $60 \pm 5\%$ в термосвариваемых полиэтиленовых пакетах без вторичной упаковки на 5 сериях ПЛ для лечения кариеса эмали в исследуемой группе.

Сравнительная оценка значений показателей качества ПЛ представлена в таблице 22. Данные представленные в таблице свидетельствуют о корреляции результатов при стабильности физико-химических показателей и количественного определения действующих веществ в ПЛ в течение 2 лет, изменения в количественном содержании активных компонентов в ПЛ находятся в пределах норм допустимых отклонений, что говорит о приемлемости результатов метода долгосрочных испытаний стабильности.

Таблица 22 - Результаты изучения стабильности ПЛ для лечения кариеса эмали

№ серии	Срок хранения	Описание	Технологические параметры					Подлинность	Количественное определение			Микробиологическая чистота
			толщина, мм	средняя масса, г	время растворения, мин	pH	Потеря в массе при высуш., %		CaCl ₂	K ₂ HPO ₄	NaF	
1	0	плоские, однородные, эластичные пластинки	0,212 ± 0,004	0,0550 0,0001	25 ± 0,02	7,18 ±0,05	7,26 ± 0,3	положит.	0,00418 ±0,00016	0,0073 ±0,00041	0,000105 ±0,000003	соотв.
	6	без механических включений, пузырьков, микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета	0,213 ± 0,004	0,0550 0,0001	25 ± 0,02	7,24 ±0,05	7,9 ±0,3	положит.	0,00401 ±0,00016	0,0065 ±0,00037	0,000105 ±0,000003	соотв.
	12		0,212 ± 0,004	0,0558 ±0,0001	25 ± 0,02	7,20 ±0,05	7,9 ±0,3	положит.	0,00385 ±0,00015	0,0059 ±0,00034	0,000100 ±0,000003	соотв.
	18		0,215 ± 0,004	0,0556 ±0,0001	25 ± 0,02	7,21 ±0,05	8,20 ±0,3	положит.	0,00388 ±0,00015	0,0060 ±0,00034	0,000100 ±0,000003	соотв.
	24		0,212 ± 0,004	0,0563 0,0001	25 ± 0,02	7,18 ±0,05	8,31 ±0,3	положит.	0,00372 ±0,00015	0,0058 ±0,00033	0,000102 ±0,000003	соотв.
	27		0,212 ± 0,004	0,0560 ±0,0001	25 ± 0,02	7,25 ±0,05	8,30 ±0,3	положит.	0,00364 ±0,00014	0,0055 ±0,00031	0,000104 ±0,000003	соотв.
2	0	плоские, однородные, эластичные пластинки	0,205 ± 0,004	0,0515 ±0,0001	25 ± 0,02	7,24 ±0,05	7,28 ± 0,3	положит.	0,00367 ±0,00014	0,0070 ±0,00039	0,000100 ±0,000003	соотв.
	6	без механических включений, пузырьков, микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета	0,206 ± 0,004	0,0530 ±0,0001	25 ± 0,02	7,11 ±0,05	7,56 ±0,3	положит.	0,00358 ±0,00014	0,0065 ±0,00037	0,00009 ±0,000003	соотв.
	12		0,205 ± 0,004	0,0538 ±0,0001	25 ± 0,02	7,15 ±0,05	7,84 ±0,3	положит.	0,00352 ±0,00014	0,0060 ±0,00034	0,00009 ±0,000003	соотв.
	18		0,205 ± 0,004	0,0553 ±0,0001	25 ± 0,02	7,20 ±0,05	7,90 ±0,3	положит.	0,00345 ±0,00013	0,0055 ±0,00031	0,000100 ±0,000003	соотв.
	24		0,205 ± 0,004	0,0558 ±0,0001	25 ± 0,02	7,18 ±0,05	8,20 ±0,3	положит.	0,00340 ±0,00013	0,0054 ±0,00031	0,00009 ±0,000003	соотв.
	27		0,206 ± 0,004	0,0550 ±0,0001	25 ± 0,02	7,20 ±0,05	8,15 ±0,3	положит.	0,00319 ±0,00012	0,0054 ±0,00031	0,00009 ±0,000003	соотв.
	0	плоские, однородные, эластичные пластинки	0,197 ±0,004	0,0488 ±0,0001	23 ± 0,02	7,15 ±0,05	7,90 ± 0,3	положит.	0,00360 ±0,00014	0,0068 ±0,00039	0,000097 ±0,000003	соотв.
	6	без механических включений, пузырьков,	0,197 ±0,004	0,0488 ±0,0001	23 ± 0,02	7,15 ±0,05	7,90 ±0,3	положит.	0,00350 ±0,00014	0,0063 ±0,00036	0,000092 ±0,000003	соотв.

3	12	микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета	0,197 ±0,004	0,0506 ±0,0001	23 ± 0,02	7,11 ±0,05	8,04 ±0,3	положит.	0,00346 ±0,00014	0,0055 ±0,00031	0,000097 ±0,000003	соотв.
	18		0,198 ±0,004	0,0507 ±0,0001	23 ± 0,02	7,15 ±0,05	8,00 ±0,3	положит.	0,00332 ±0,00013	0,0056 ±0,00032	0,000100 ±0,000003	соотв.
	24		0,197 ±0,004	0,0523 ±0,0001	23 ± 0,02	7,13 ±0,05	8,10 ±0,3	положит.	0,00310 ±0,00012	0,0055 ±0,00031	0,000097 ±0,000003	соотв.
	27		0,197 ±0,004	0,0527 ±0,0001	23 ± 0,02	7,10 ±0,05	8,20 ±0,3	положит.	0,00308 ±0,00012	0,0054 ±0,00031	0,000100 ±0,000003	соотв.
4	0	плоские, однородные, эластичные пластинки	0,210 ± 0,004	0,0523 ±0,0001	24 ± 0,02	7,20 ±0,05	7,56 ± 0,3	положит.	0,00408 ±0,00016	0,0070 ±0,00039	0,000102 ±0,000003	соотв.
	6	без механических включений, пузырьков,	0,211 ± 0,004	0,0523 ±0,0001	24 ± 0,02	7,30 ±0,05	7,60 ±0,3	положит.	0,00391 ±0,00015	0,0066 ±0,00037	0,000107 ±0,000003	соотв.
	12	микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета	0,210 ± 0,004	0,0520 ±0,0001	24 ± 0,02	7,21 ±0,05	7,69 ±0,3	положит.	0,00386 ±0,00015	0,0063 ±0,00036	0,000105 ±0,000003	соотв.
	18		0,211 ± 0,004	0,0525 ±0,0001	24 ± 0,02	7,33 ±0,05	7,92 ±0,3	положит.	0,00388 ±0,00015	0,0065 ±0,00037	0,000106 ±0,000003	соотв.
	24		0,211 ± 0,004	0,0541 ±0,0001	24 ± 0,02	7,29 ±0,05	8,00 ±0,3	положит.	0,00351 ±0,00014	0,0059 ±0,00034	0,000101 ±0,000003	соотв.
	27		0,210 ± 0,004	0,0541 ±0,0001	24 ± 0,02	7,30 ±0,05	8,00 ±0,3	положит.	0,00320 ±0,00012	0,0056 ±0,00032	0,000102 ±0,000003	соотв.
5	0	плоские, однородные, эластичные пластинки	0,195 ± 0,004	0,0469 ±0,0001	24 ± 0,02	7,16 ±0,05	8,03 ± 0,3	положит.	0,00365 ±0,00014	0,0062 ±0,00032	0,000100 ±0,000003	соотв.
	6	без механических включений, пузырьков,	0,196 ± 0,004	0,0469 ±0,0001	24 ± 0,02	7,21 ±0,05	8,00 ±0,3	положит.	0,00360 ±0,00014	0,0059 ±0,00034	0,000000 ±0,000003	соотв.
	12	микротрещин, с запахом мяты перечной, без цвета	0,195 ± 0,004	0,0511 ±0,0001	24 ± 0,02	7,20 ±0,05	8,40 ±0,3	положит.	0,00351 ±0,00014	0,0057 ±0,00033	0,000101 ±0,000003	соотв.
	18		0,194 ± 0,004	0,0525 ±0,0001	24 ± 0,02	7,16 ±0,05	8,53 ±0,3	положит.	0,00347 ±0,00014	0,0057 ±0,00033	0,000100 ±0,000003	соотв.
	24		0,195 ± 0,004	0,0530 ±0,0001	24 ± 0,02	7,10 ±0,05	8,50 ±0,3	положит.	0,00345 ±0,00013	0,0055 ±0,00032	0,000101 ±0,000003	соотв.
	27		0,196 ± 0,004	0,0531 ±0,0001	24 ± 0,02	7,15 ±0,05	8,50 ±0,3	положит.	0,00319 ±0,00012	0,0054 ±0,00031	0,000009 ±0,000003	соотв.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4

1. На основании литературно-патентного обзора произведен выбор оптимальной матрицы для ПЛ.

2. В результате проведенных биофармацевтических исследований установлено, что высвобождение активных компонентов ПЛ происходит в течении 15 минут, что определяет оптимальное время аппликации ПЛ.

3. Установлено, что скорость выхода активных компонентов зависит от набухания матрицы, с увеличением степени набухания улучшается высвобождение активных компонентов.

4. При исследовании кинетики высвобождения активных компонентов из ПЛ в зависимости от различных факторов, установлено что повышение температуры и перемешивание увеличивает скорость релиза, а изменение межфазной поверхности не оказывает существенного влияния на скорость релиза. Скорость релиза активных компонентов из ПЛ составила $1,33 \cdot 10^{-3} (\text{г/л}) \cdot \text{с}$.

5. Проведено исследование реологических параметров поливочного раствора, установлено, что он является псевдо-пластичным телом, легко перемешивается мешалкой и равномерно без сопротивления наносится на подложку с образованием однородной прозрачной пленки.

6. В результате физико-химических и технологических исследований, разработан состав и технология изготовления ПЛ для лечения кариеса эмали:

Кальция хлорида	7,65 (Ca^{2+} - 1,4 г/иона)
Калия фосфата двузамещенного	13,32 (HPO_4^{2-} -5,6 г/иона)
Натрия фторида	0,2 (F^- - 0,09 г/иона)
Натрий - КМЦ	3,0
Ксилита	0,2
Глицерина	2,0
Масло мяты перечной	0,2
Воды очищенной	до 100,0

7. Определены критические стадии при изготовлении ПЛ: порядок введения и интервал между введением активных компонентов, скорость

перемешивания поливочного раствора, температура сушки, толщина высушенного полотна, ширина ролика при нарезке, масса ПЛ и масса ПЛ в упаковке.

8. Проведена валидация методик подлинности и количественного определения активных компонентов в ПЛ для лечения кариеса эмали, доказаны критерии приемлемости методик: специфичность, правильность, внутрилабораторная прецизионность, линейная зависимость в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию активных компонентов, что позволяет использовать их для достоверной оценки качества.

9. Проведена стандартизация ПЛ для лечения кариеса эмали по показателям «Подлинность», «Количественное определение» активных компонентов, «Микробиологическая чистота», физико-химическим и технологическим параметрам, установленные показатели свидетельствуют об удовлетворительном качестве ПЛ и могут являться критериями оценки его доброкачественности при постадийном контроле в процессе производства и контроле качества конечного продукта.

10. Методом долгосрочных испытаний стабильности в полиэтиленовых пакетах, упакованных методом термосваривания при температуре от 15 до 25°C определен срок годности ПЛ для лечения кариеса эмали в течении 2-х лет.

ГЛАВА 5. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕЛЯ И ПЛЕНОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ

Доклинические исследования разработанных ЛФ для лечения кариеса эмали проводили путем оценки острой токсичности и фармакологической активности по проявлению реминерализующей, противовоспалительной и антимикробной активности.

5.1. Исследование острой токсичности

В соответствии с Федеральным законом от 12 апреля 2010 года № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» при внедрении в клиническую практику ЛП в рамках доклинических исследований обязательно определение их острой токсичности. Доклинические исследования острой токсичности направлены на выявление и оценку выраженности токсических эффектов, возникающих при взаимодействии фармакологических веществ с организмом лабораторных животных в условиях кратковременного применения и позволяют получить данные, достаточные для определения возможности и риска проведения клинических испытаний ЛС.

Исследование острой токсичности проводилось на базе Пермского государственного национально исследовательского университета под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности Махмудова Р.Р., на белых мышах при пероральном введении водных растворов геля и ПЛ согласно методике, описанной в гл.2.2.6.

В результате экспериментального исследования острой токсичности установлено, что после перорального введения водного раствора геля и ПЛ в суммарной суточной дозе от 500 до 1500 мг/кг все животные были подвижны, признаков интоксикации не наблюдалось, ни одно животное в группе не погибло в течении 14 суток.

После введения водного раствора геля в дозе 1800 мг/кг наблюдалось общее угнетенное состояние, симптомов интоксикации не наблюдалось, летальность составила 40% в течение 14 дней.

Однако после введения водного раствора ПЛ в дозе 1800 мг/кг все животные остались живы, при повышении дозы водного раствора ПЛ до 2800 мг/кг наблюдалось общее угнетенное состояние животных, летальность составила 40% в течение 14 дней.

Клиническое состояние всех выживших животных характеризовалось как удовлетворительное. На основании проведенного исследования установлено, что ЛД₄₀ для геля составила 1800 мг/кг, ЛД₄₀ для ПЛ составила 2800 мг/кг.

При экстраполяции экспериментальных данных результатов токсикологических исследований на мышах, установлено, что расчетный безопасный курс для двухнедельной схемы применения геля для лечения кариеса эмали составляет 234 дня, индекс безопасности при этом равен 17. Расчетный безопасный курс для двухнедельной схемы применения ПЛ составил 606 дней, а индекс безопасности 43. Установленные данные позволяют отнести гель и ПЛ для лечения кариеса эмали к III классу малотоксичных (малоопасных) ЛП согласно классификации ЛП для клинического применения ($ИБ > 5$).

5.2. Исследование антимикробной активности

Исследование антимикробной активности проводилось на кафедре микробиологии ПГФА под руководством канд. фар. наук заведующей кафедры Новиковой В.В., методом диффузии в агар, модифицированным с учетом специфики ЛФ согласно методике, описанной гл. 2.2.5. Результаты исследования антимикробной активности геля и ПЛ представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Исследование антимикробной активности геля и ПЛ для лечения кариеса эмали

Препарат	Наименование штамма	Диаметр зоны задержки, мм
Гель	S. aureus 6538P ATCC/	8,0/7,0/34,6
	E.Coli 25922 ATCC/	10,6/7,0/30,0
	C. albicans ATCC 885-653	7,0/7,0/20,3
ПЛ	S. aureus 6538P ATCC/	9,6/7,0/25,0
	E.Coli 25922 ATCC/	10,6/7,0/17,3
	C. albicans ATCC 885-653	7,0/7,0/15,6
р-р диоксидина 1% (препарат сравнения)	S. aureus 6538P ATCC/ E.Coli 25922 ATCC	45,6/58,6

В результате проведенного исследования установлена высокая противогрибковая активность геля для лечения кариеса эмали и средняя противогрибковая активность ПЛ в отношении *Candida albicans*. Установлена низкая антибактериальная активность геля и ПЛ в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia Coli*.

Исследование антимикробной активности на представителей индигенной микрофлоры полости рта относительно тест-штаммов *Lactobacillus plantarum* при оценке выживаемости и активности кислотообразования проводились согласно методике, описанной гл. 2.2.5 для ПЛ, на базе отделения препаратов для бактериотерапии Пермского НПО «Биомед» под руководством доктора фарм. наук, доцента Несчисляева В.А.

По результатам подсчёта выросших колоний в исследовании выживаемости лактобактерий на плотной питательной среде МРС-4 получены данные, представленные в таблице 24.

Таблица 24 - Концентрация бактериальных клеток

Образец	Количество колоний, шт			Числовой показатель	Количество клеток	
	6	6	7		КОЕ/мл	lg
контроль	252	256	14	17,9	$17,4 \times 10^8$	9,24
	240	252	15	16,9		
ПЛ	244	272	32	18,3	$16,0 \times 10^8$	9,22
	192	196	22	13,7		

Установлено, что ПЛ не влияют на выживаемость лактобактерий, статистически значимых отличий нет. t-критерий Стьюдента опытных образцов не превышал 1 по сравнению с контролем.

Результаты исследования кислотообразующей активности лактобактерий (пробиотической активности) представлены в таблице 25.

Таблица 25 - Кислотообразующая активность лактобактерий

Показатель		Контроль	ПЛ
рН	Исходные	6,25±0,05	6,26±0,05
	После инкубации	3,84±0,05	3,81±0,05
Кислотообразующая активность	Исходные	44,67±0,02	54,82±0,02
	После инкубации	212,45±0,03	230,46±0,01
Коэффициент стимуляции кислотообразования			1,05±0,01

Исследования показали, что ПЛ не оказывают кислотостимулирующего влияния на лактобактерии по сравнению с контролем, так как коэффициент стимуляции опытных образцов не превышал 1,2.

По результатам проведённого исследования ПЛ установлено, их индифферентное действие на представителей индигенной микрофлоры полости рта, в связи с отсутствием положительных результатов антимикробной активности ПЛ в отношении *Lactobacillus plantarum*, исследование специфичной антимикробной активности геля признано не целесообразным.

5.3. Исследование противовоспалительной активности

Исследование противовоспалительной активности проводили на базе ФГБОУ ВО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера под руководством заведующей кафедры фармакологии, доктора фармацевтических наук, профессора Вдовиной Г.П., по модели каррагенинового отёка на крысах при пероральном введении и при наружном нанесении тестируемых препаратов в суточной дозе согласно методике, описанной г.2.2.6. Выраженность воспалительной реакции оценивали онкометрически, определяя объём воды, вытесненной из полностью заполненного сосуда лапой животного.

Данные исследования оценки противовоспалительной активности при пероральном введении и наружном нанесении представлены в таблице 26 и 27 соответственно.

Таблица 26 - Противовоспалительная активность геля и ПЛ при пероральном введении

Экспериментальные группы	Абсолютные значения объема, мл		Изменение объема, мл	% торможения отека к контролю
	Фон	ч/з 3 часа после индукции воспаления		
Опытная группа ПЛ	1,03 ± 0,17	1,87 ± 0,24	0,84 ± 0,19	10,1
Опытная группа гель	1,05±0,27 p2<0,001	1,6±0,32 p2<0,001	0,54±0,17 p2<0,001	42,1 p2<0,001
Контрольная группа плацебо ПЛ	1,05 ± 0,12	2,04 ± 0,30	0,82 ± 0,27	12,1
Контрольная группа плацебо гель	1,03 ± 0,17	1,7 ± 0,43	0,81 ± 0,18	13,4
Диклофенак	1,17±0,25 p1<0,01	1,77±0,28 p1<0,01	0,56±0,17 p1<0,01	45,9 p1<0,01
Контроль	0,94 ± 0,19	1,87 ± 0,26 p<0,05	0,93 ± 0,23	-

Примечание: $p < 0,05$ достоверность по отношению к интакту; $p1 < 0,01$ достоверность по отношению к группе сравнения; $p2 < 0,001$ достоверность по отношению к группе контроля

Таблица 27 – Противовоспалительная активность геля и ПЛ при наружном применении

Экспериментальные группы	Абсолютные значения объема, мл		Изменение объема, мл	% торможения отека к контролю
	Фон	ч/з 3 часа после индукции воспаления		
Опытная группа ПЛ	1,13 ± 0,15	1,94 ± 0,14	0,82 ± 0,27	12,3
Опытная группа гель	1,1±0,17 $p2 < 0,001$	1,56±0,24 $p2 < 0,001$	0,46±0,21 $p2 < 0,001$	50,45 $p1 < 0,001$
Контрольная группа плацебо ПЛ	1,15±0,10	1,98±0,26	0,83±0,26	10,5
Контрольная группа плацебо гель	1,22±0,23 $p1 < 0,001$	1,88±0,21 $p1 < 0,001$	0,67±0,10 $p1 < 0,001$	28,43 $p2 < 0,001$
Диклофенак	1,27±0,24 $p2 < 0,001$	1,73±0,3 $p2 < 0,001$	0,44±0,22 $p2 < 0,001$	53,20 $p2 < 0,001$
Контроль	0,94 ± 0,19	1,87 ± 0,26	0,93±0,23	-

Примечание: $p < 0,05$ достоверность по отношению к интакту; $p1 < 0,001$ достоверность по отношению к группе сравнения, $p2 < 0,001$ по отношению к группе контроля

На основании полученных результатов установлено что наибольшей противовоспалительной активностью при пероральном введении и наружном нанесении обладает гель для лечения кариеса эмали в разовой суточной дозе 2,5 г, его активность сопоставима с противовоспалительной активностью таблеток и геля диклофенака.

5.4. Исследование реминерализующей активности

Реминерализующее действие является основным терапевтическим эффектом разрабатываемых ЛФ, оно заключается в насыщении эмали минеральными компонентами, ее восстановлении.

Исследование реминерализующей активности проводили методом определения кальция и фосфора в золе эмали согласно методике, описанной в гл. 2.2.6. Результаты исследования реминерализующей активности методом *in vitro* представлены в таблице 28.

Таблица 28 - Содержание кальция и фосфора (%) в золе эмали до и после лечения гелем и ПЛ для лечения кариеса эмали

Препарат	Содержание кальция в золе, %		Содержание фосфора в золе, %	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Гель	37,39±2,17	38,21±2,72 p<0,05	23,88±0,78	24,70±0,45
	36,57±1,32	40,67±3,14 p<0,05	25,92±0,96	27,25±0,62
	32,81±1,54	36,08±1,11	24,77±0,64	26,90±1,37 p<0,05
	34,42±1,53	37,25±2,07	26,05±0,89	27,48±0,96 p<0,05
	36,17±2,23	39,02±2,52 p<0,05	25,59±0,37	27,13±1,05
ПЛ	36,57±0,98	39,03±1,56	29,12±1,06	29,45±0,39
	38,21±2,30	39,03±2,98 p<0,05	23,28±0,18	25,15±0,98
	31,16±1,62	39,6±2,45	26,38±0,71	26,68±0,59 p<0,05
	35,12±1,44	38,06±1,17	25,68±0,67	26,72±0,41
	37,39±2,01	38,21±2,27	23,88±0,65	24,70±0,54
Примечание: p<0,05 достоверность по отношению к контролю (до лечения)				

Средние величины прироста кальция и фосфора в золе эмали представлены на рисунках 26 и 27.

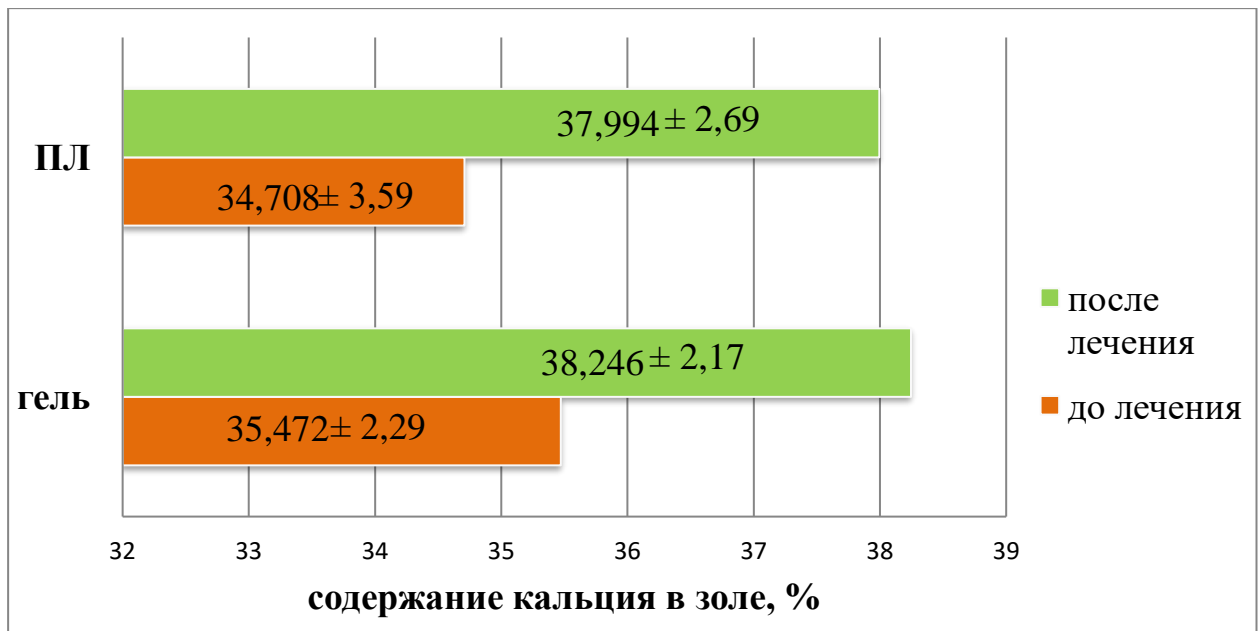


Рисунок 26 - Содержание кальция (%) в золе эмали до и после лечения гелем и ПЛ для лечения кариеса эмали

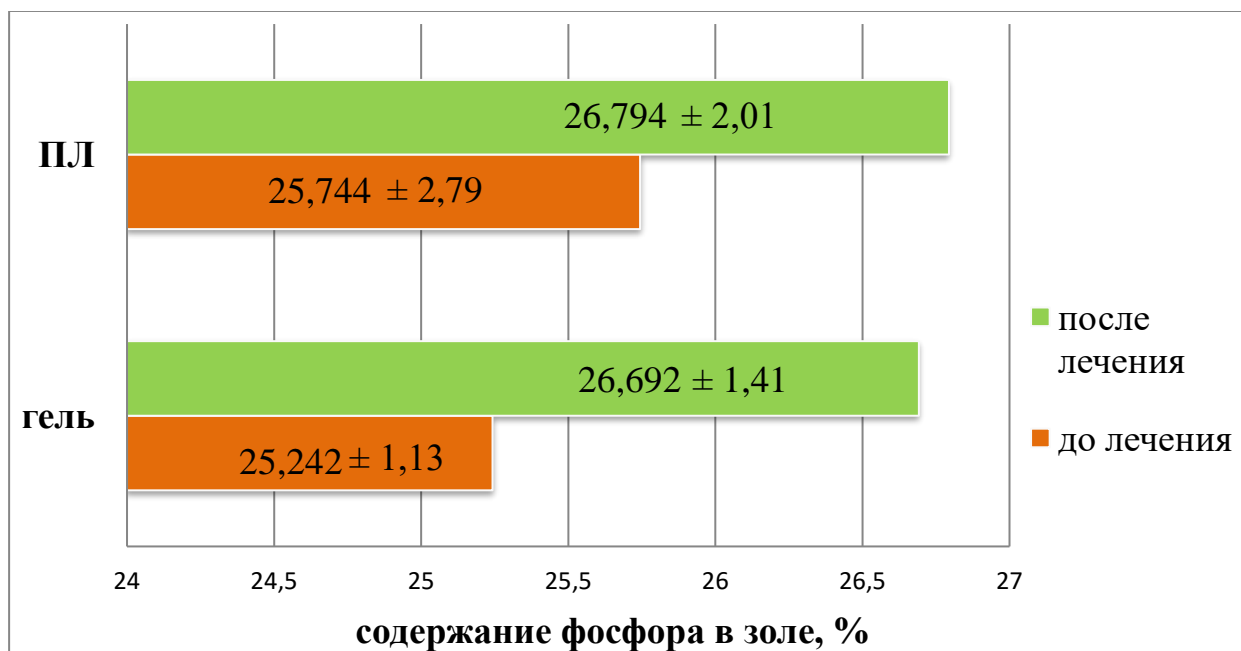


Рисунок 27 - Содержание фосфора (%) в золе эмали до и после лечения гелем и ПЛ для лечения кариеса эмали

На основании представленных данных установлено, что гель и ПЛ для лечения кариеса эмали, достоверно повышают содержание кальция и фосфора в эмали зуба.

Гистологическое исследование проводили на базе ГБУЗ ПК Краевой детской клинической больницы под руководством заведующей патологоанатомической лаборатории Патлусовой Е.С. согласно методике, описанной в гл. 2.2.6. Результаты изучения морфологического строения эмали до и после лечения гелем и ПЛ представлены на рисунках 28 и 29 соответственно.

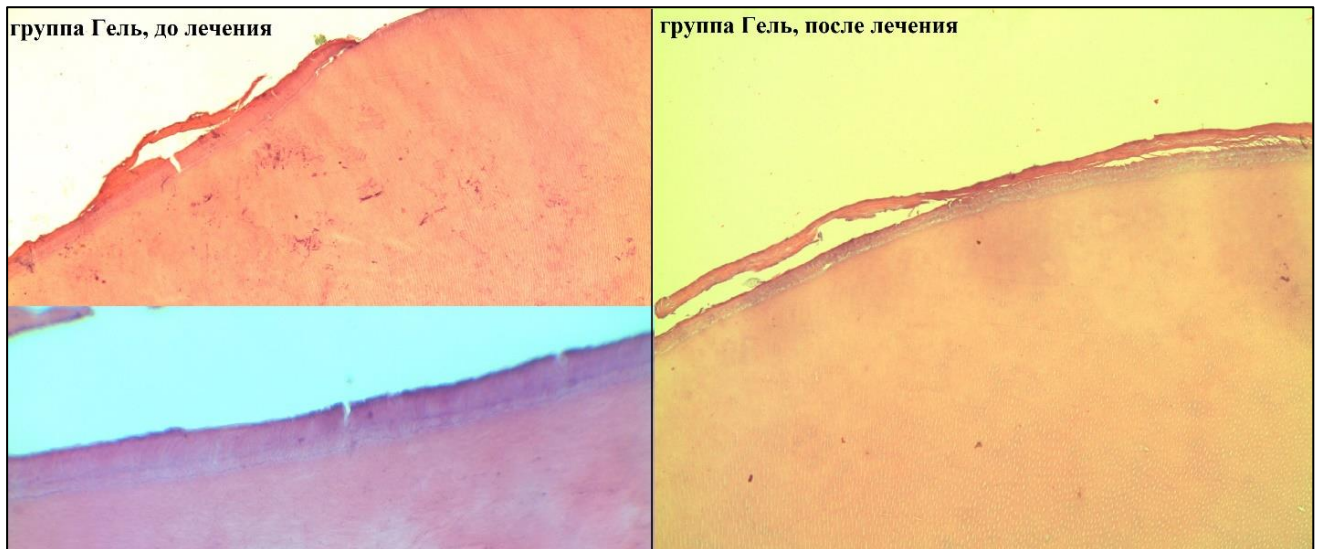


Рисунок 28 – Изображения срезов гистологических образцов группы геля для лечения кариеса эмали

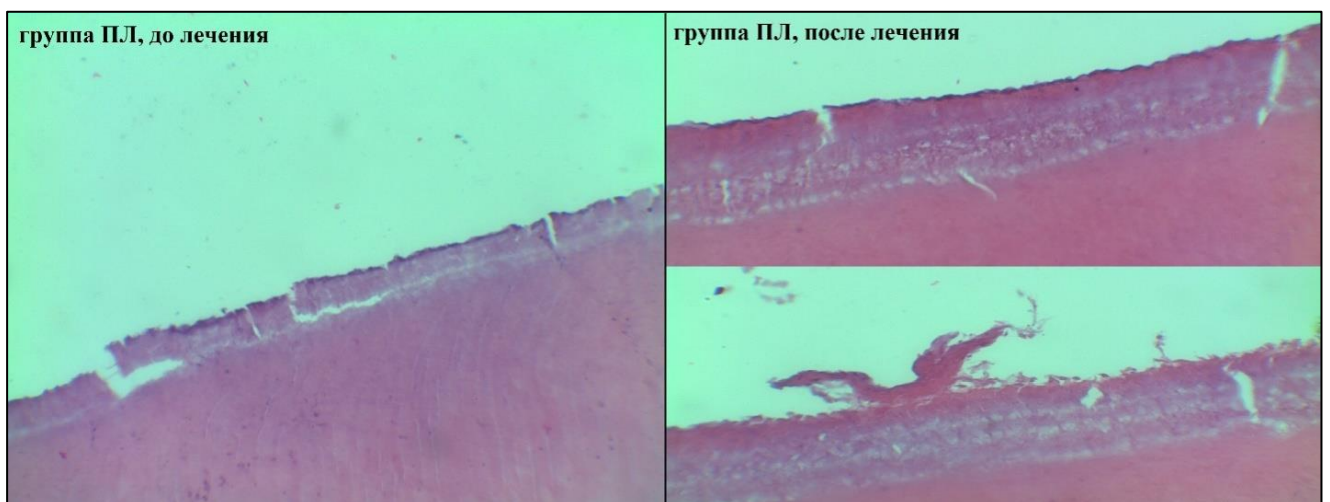


Рисунок 29 – Изображения срезов гистологических образцов группы ПЛ для лечения кариеса эмали

При изучении гистологических образцов контрольных зубов группы геля и ПЛ, не поддававшихся лечению, установлено, что эмаль отсутствует на значительном протяжении на уровне жевательной поверхности и частично сохранена в области боковых поверхностей. Слой эмали разрыхлен, окрашен

неравномерно, с наличием участков просветления, линейных трещин, расположенных перпендикулярно, часто разрушен, гомогенизирован, местами в группе геля достигает дентина. В участках, лишенных эмали, на поверхности зубной коронки видны неравномерно выраженные буроватые глыбки. Эмалево – дентинная граница неровная, местами слой эмали отделен от дентина. На уровне шейки зуба сохранены волокнистые структуры на уровне эмали (связочный аппарат).

При изучении гистологических образцов зубов, прошедших курс лечения гелем и ПЛ, установлено, что эмаль расположена прерывистым слоем и наиболее хорошо видна на уровне боковых поверхностей зуба, эмаль группы ПЛ расположена более протяженным слоем. В слое эмали видны небольшие щелевидные дефекты линейной формы. Эмалево – дентинная граница относительно ровная, слой эмали местами отстаёт от дентина за счёт процессов колликвации. На поверхности эмали прослеживаются небольшие глыбки буровато – розоватого цвета.

В результате проведенного гистологического исследования установлено, что после прохождения курса лечения гелем и ПЛ наблюдается восстановление эмали, сокращается количество разрывов и линейных трещин в структуре эмали, выравнивается эмалево-дентинная граница, отслоения эмали не наблюдается, что говорит о целесообразности лечебно-профилактического применения геля и ПЛ в качестве реминерализующих средств для восстановления дефектов эмали зуба.

Морфометрическим методом, описанном в гл. 2.2.6., определена толщина слоя эмали на поверхности зубов до и после лечения гелем и ПЛ, результаты представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Значения толщины слоя эмали гистологических образцов до и после лечения гелем и ПЛ

№ образца	Толщина слоя эмали, мкм			
	группа гель		группа ПЛ	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
1	164,46±12,01	187,68±20,27	103,62±10,24 p<0,05	393,08±47,76
2	149,62±8,53	175,13±36,43	83,64±8,81	356,25±43,43
3	152,15±15,53 p<0,05	218,69±44,98	105,67±16,09 p<0,05	386,15±16,68
4	157,28±9,61	182,56±37,46	78,64±12,03	402,19±30,97
5	169,23±12,11	199,27±11,92	99,57±9,99 p<0,05	421,62±53,21
Примечание: p<0,05 достоверность по отношению к контролю (до лечения)				

На основании данных представленных в таблице 29, установлено, что толщина слоя эмали при лечении ПЛ значительно возрастает, превышает контрольные образцы в 4 раза. При лечении гелем также наблюдается увеличение слоя эмали, но менее интенсивно.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что гель и ПЛ для лечения кариеса эмали обладают выраженным реминерализующим действием.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5

1. В результате исследования острой токсичности установлено, что гель и ПЛ для лечения кариеса эмали являются малотоксичными при пероральном применении.

2. Установлена высокая противогрибковая и низкая антибактериальная активность геля для лечения кариеса эмали, ПЛ обладают средней противогрибковой и низкой антибактериальной активностью, в том числе на представителей индигенной микрофлоры.

3. Установлено что гель для лечения кариеса эмали обладает выраженной противовоспалительной активностью сопоставимой с противовоспалительной активностью таблеток диклофенака при пероральном введении и геля диклофенака при наружном нанесении. ПЛ обладают менее выраженной по сравнению с гелем для лечения кариеса эмали противовоспалительной активностью, но достоверно превышающей контрольные показатели.

4. В результате проведённых гистологических, морфометрических исследований и исследований методом *in vitro* установлено, что разработанные ЛФ оказывают реминерализующий эффект - насыщают зубную эмаль ионами кальция и фосфора, повышая ее кислотоустойчивость, увеличивают толщину слоя эмали зубов и улучшают ее структуру, что позволяет предотвратить развитие кариеса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведен научно обоснованный выбор действующих веществ в геле и ПЛ. В качестве активных компонентов выбраны кальция хлорид, калия фосфат двузамещенный и натрия фторид. На основании технологических, физико-химических, биофармацевтических и реологических исследований разработаны составы и технология изготовления геля и ПЛ для лечения кариеса эмали.

2. В результате поэтапного эксперимента выбрана основа для геля, обеспечивающая высокую степень высвобождения активных компонентов. Изучены структурно-механические свойства геля для лечения кариеса эмали. Установлено что гель является упруго-вязко-пластичной системой и обладает тиксотропностью.

3. На основании проведенных биофармацевтических исследований установлено оптимальное время аппликации геля 15 - 20 минут и ПЛ 15 минут при практическом применении. Установлены кинетические закономерности высвобождения активных компонентов из геля и ПЛ.

4. Разработаны и валидированы методики испытания на подлинность и количественного определения активных компонентов в геле и ПЛ, определена подлинность и количественное определение активных компонентов, рН и технологические параметры. Все показатели воспроизводимы во всех сериях опытов и позволяют контролировать качество продукции в процессе изготовления и хранения.

5. В результате исследования стабильности ЛФ определены тароупаковочные материалы, обеспечивающие наибольшую сохранность: тубы с лаковым покрытием и пластмассовыми бушонами для геля и полиэтиленовые пакеты, упакованные методом термосваривания для ПЛ. Методом долгосрочных испытаний стабильности установлен срок годности и условия хранения геля и ПЛ в течении 2-х лет.

6. При исследовании острой токсичности установлено, что гель и ПЛ относятся к III классу токсичности малоопасные ЛП, LD 40 для геля составила 1800 мг/кг и LD 40 для ПЛ 2800 мг/кг. Методом диффузии в агар установлена

высокая противогрибковая активность геля и средняя ПЛ, низкая антибактериальная активность геля и ПЛ. Доказано наличие противовоспалительной активности на модели каррагенинового отёка в дозах 2,5 г для геля и 30-ти штук STD ПЛ (массой $0,05 \pm 10\%$ г). Подтверждено реминерализующее действие геля и ПЛ методом определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* и гистологическими исследованиями при ежедневной аппликации 2,5 г геля и 30-ти STD ПЛ на всю поверхность зубной эмали в течении 14 дней (массой $0,05 \pm 10\%$ г).

7. Разработаны и утверждены методические указания по изготовлению и контролю качества геля и ПЛ для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций, г. Пермь, 2017г, проект ФС и нормативная документация на производство геля для лечения кариеса эмали.

Рекомендации заключаются в расширении доклинических токсикологических исследований, в частности оценке хронической токсичности, в проведении клинических испытаний специфической фармакологической активности ЛФ и регистрации геля и ПЛ в качестве лекарственных препаратов.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются во внедрении в производство фармацевтических предприятий геля для лечения кариеса эмали и в экстенпоральное изготовление аптечных организаций ПЛ; разработке проекта ФС и нормативной документации на производство ПЛ и внедрение их в производство фармацевтических предприятий; продвижение лекарственных форм на отечественный фармацевтический рынок с целью расширения ассортимента лекарственных препаратов для реминерализующей терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АСР - amorphouscalciumphosphate

СРР – Casein Phospho Peptide

EADP - European Archives of Paediatric Dentistry

FDA – Foodand Drug Administration

Натрий-КМЦ – натрий карбоксиметилцеллюлоза

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГФ –государственная фармакопея

ГОСТ – государственный стандарт

ЕЭС - европейское экономическое сообщество

ЛП – лекарственный препарат

ЛС – лекарственное средство

ЛФ – лекарственная форма

МЗ – министерство здравоохранения

МУ – методические указания

МЦ - метилцеллюлоза

НД – нормативный документ

ОФС – общая фармакопейная статья

ПЛ – пленки лекарственные

РИЦ - региональный испытательный центр

СОПР – слизистая оболочка полости рта

СТД – средняя терапевтическая доза

РСО – рабочий стандартный образец

РФ – Российская Федерация

ТУ – технические условия

ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера

ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации

ФС – фармакопейная статья

ЦНИИ –центральный научно-исследовательский институт

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алеева, Г.Н. Роль вспомогательных веществ в обеспечении фармацевтических и терапевтических свойств лекарственных препаратов (обзор)/ Г.Н. Алеева, М.В. Журавлева, Р.Х. Хафизьянова // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. - № 4. – С. 51 - 53.
2. Алексеева, И.В. Разработка обезболивающего геля «Анилогель» для применения при диагностических и лечебных манипуляциях в урологии / И.В. Алексеева, В.И. Панцуркин, Т.Ф. Одегова, Т.Е. Рюмина // Химико-фармацевтический журнал. - 2012. - Т. 46. № 12. - С. 40 - 43.
3. Алексеева, И.В. Разработка состава, технологии и стандартизация мазей анилокаина: дис. ... канд. фарм. наук:15.00.01, 15.00.02 / Алексеева Ирина Владимировна. Пермь, 1999. – 143 с.
4. Алексеева, И.В. Технологические и биофармацевтические основы создания лекарственных форм, содержащих местный анестетик анилокаин: автореф. дис. ... докт. фарм. наук:15.00.01 / Алексеева Ирина Владимировна. – Пермь, 2007. – 50 с.
5. Ананьев, В.Н. Новая адресная иммобилизованная лекарственная форма – лекарственные желатиновые пленки / В.Н. Ананьев, Ю.Т. Новиков, Е.А. Фурина, С.В. Опарин, А.А. Чесноков, Н.Ю. Латенкова, Л.И. Котлова, Е.Н. Куличенко. - Москва. Изд-во «Медицинская книга», 2004. – 215 с.
6. Ананьев, В.Н. Применение лекарственных желатиновых пленок в медицине / В.Н. Ананьев, Ю.Т. Новиков, Е.А. Фурина, В.В. Быкова, Н.Ю. Сулычева. – Москва: изд. фирм. «Крук», 2001. – 200 с.
7. Андреев, В.С. Кондуктометрические методы и приборы в биологии и медицине / В.С. Андреев. – М.: Медицина, 1973. – 126 с.
8. Анурова, М.Н. Принципы коррекции вкуса пероральных гелей с синтетическими лекарственными веществами / М.Н. Анурова, Е.О. Бахрушина, Н.В. Пятигорская, О.М. Ямбикова // Фармация и фармакология. – 2015. - № 4 (11). – С. 15 - 20.

9. Арутюнов, С.Д. Применение пленки «Диплен Ф» при лечении кариеса в стадии меловидного пятна / С.Д. Арутюнов, В.Н. Царев [и др.] // *Стоматолог Инфо.* – 2008. - № 1. – С. 45 - 47.
10. Атежанов, Д.О. Профилактика кариеса зубов у детей дошкольного возраста с применением отечественного стоматологического средства «Ремин» / Д.О. Атежанов // *Вестник Казахского Национального медицинского университета.* – 2016. - № 1. - С. 298 - 301.
11. Багирова, В.Л. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности: методические рекомендации / В.Л. Багирова, А.И. Гризодуб, Т.Х. Чибилев, Д.А. Леонтьев, Н.А. Ляпунов, И.С. Терно, И.А. Касакин; под редакцией: Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна, М.А. Гетьмана, А.А. Малина, В.В. Косенко. - М.: Издательство «Спорт и Культура - 2000», 2007. - 192 с.
12. Баранова, И.И. Изучение структурно-механических и физико-химических свойств гелевых основ с ксантаном / И.И. Баранова // *Запорожский медицинский журнал.* - 2008. - №5(50). – С. 106 - 108.
13. Барера, Г.М. Рациональная фармакотерапия в стоматологии / Г.М. Барера, Е.В. Зорян. – М.: Литтерра, 2006. – 568 с.
14. Бертулис, А.П. Разработка технологии производства и методов контроля аппликационных лекарственных форм – биорастворимых полимерных пленок и накожных терапевтических систем с сердечно-сосудистыми средствами: автореферат дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 / Бертулис Альбертас Пятрович. - Харьков, 1990. – 22 с.
15. Блинова, О.А. Стандартизация хвойного хлорофиллина натрия, разработка составов, технологии лечебных и лечебно-профилактических средств на его основе: дис. ...канд.фарм. наук: 15.00.02, 15.00.01 / Блинова Ольга Алексеевна. - Пермь, 1998 – 156 с.
16. Боровский, Е.В Биология полости рта / Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев. -М.: Медицинская книга, Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2001. – 304 с.

17. Боровский, Е.В. Лечение кариеса в стадии белого пятна у детей методом глубокого фторирования / Е.В. Боровский, Т.Г. Завьялова // Стоматология. - 2002. - № 9. - С. 52 - 54.
18. Боровский, Е.В. Содержание кальция и фосфора в эмали в различные периоды после прорезывания зуба / Боровский Е.В., Позюкова Е.В. Стоматология. 1985.- Т. 64, № 5. - С. 29 - 31.
19. Боровский, Е.В. Содержание кальция, фосфора и фтора в поверхностном слое эмали при кариесе и сходных с ним поражениях зубов / Е.В. Боровский, Л.Н. Максимовская // Стоматология. - 1982. - № 3. - С. 32 - 34.
20. Боровский, Е.В. Терапевтическая стоматология / Е.В. Боровский под редакцией Е.В. Боровского. - 2 издание. - М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 798 с.
21. Булкина, Н.В. Ультрамикроскопическое исследование процессов деминерализации и реминерализации эмали / Н.В. Булкина, Е.А. Пудовкина, А.М. Захаревич [и др.] // Стоматология. – 2012. - № 3. – С. 11 – 14.
22. Бутвиловский, А.В. Глубокое фторирование твердых тканей зубов: механизм действия, показания к применению / А.В. Бутвиловский, Ж.М. Бурак, Д.Н. Наумович, Н.Н. Винникова, Н.Г. Кухмар // Современная стоматология. – 2010. - № 1. - С. 30 - 33.
23. Бутвиловский, А.В. Химические основы деминерализации и реминерализации эмали зубов / А.В. Бутвиловский, Е.В. Барковский, И.С. Кармалькова // Вестник Витебского гос. медицинского ун-та. – 2011. - Т. 10, № 1. - С. 138.
24. Быков, В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека: учебное пособие / В.Л. Быков. - Издание второе исправленное. – Спб: «Специальная Литература», 1998 – 248 с.
25. Галынкин, В.А. Фармацевтическая микробиология / В.А. Галынкин, В.И. Кочеровец, А.Э. Габидова; под редакцией В.А. Галынкина, В.И. Кочеровца. - 2 издание, дополненное и переработанное. -М.: Арнебия, 2015. – 240 с.

26. Гемонов В.В. Атлас по гистологии и эмбриологии органов ротовой полости и зубов / В.В. Гемонов, Э.Н. Лаврова, Л.И. Филин. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. – 96 с.
27. Голованенко, А.Л. Исследование по разработке состава, технологии и стандартизации стоматологических пленок анестезирующего действия: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 / Голованенко Анна Леонидовна. – Пермь, 2000. – 158 с.
28. Голованенко, А.Л. Основные подходы к стандартизации пленок лекарственных / А.Л. Голованенко, М.М. Смирнова, И.В. Алексеева, О.А. Блинова // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 2. – С. 420.
29. Горбуленко, В.Б. Изменение неорганического кальция и фосфора рН среды слюны при гиперстезии твердых тканей зубов / В.Б. Горбуленко, С.Ю. Шостаковская, В.Я. Яковлева // Новое в стоматологии. -2003. -№ 2 (110). - С. 70 - 72.
30. Государственная Фармакопея РФ: XIII издание. Том 1.– 2015. – 1470 с.
31. Государственная Фармакопея РФ: XIII издание. Том 3.– 2015. – 1294 с.
32. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>.
33. ГОСТ 23268.18 – 78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Методы определения фторид-ионов. М.: ИПК Издательство стандартов, 2003 – С. 8.
34. Дедова, Л.Н. Слюна: современный взгляд стоматолога / Л.Н. Дедова, О.С. Городецкая // Стоматолог. Минск. –2011. - № 2 (2). - С. 15 - 20.
35. Дильбарханов, Р.Д. Изучение поверхностно-активных и реологических свойств некоторых структурообразователей / Р.Д. Дильбарханов, Г.С. Башура, И.Ф. Белконь, Ф.Я. Сайфутдинова // Фармация. - 1980. - № 3. – С. 25 - 28.

36. Домунян, А.М. Разработка технологии и стандартизация лекарственных пленок с экстрактом астрагала эспарцетного / А.М. Домунян, Н.Н. Гужва // Материалы I респуб. Научно-практической конференции «применение лекарственных пленок в практической медицине». Тюмень. -1999. - С. 14 - 17.

37. Жаркова, О.А. Реминерализирующая терапия с использованием GC Tooth Mousse / О.А. Жаркова, О.С. Лобкова // Журнал «Современная стоматология». – 2011. -№ 2.

38. Жилиякова, Е.Т. Изучение физико-химических и технологических характеристик натрий карбоксиметилцеллюлозы с целью создания пролонгированных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой / Е.Т. Жилиякова, Н.Н Попов, М.Ю. Новикова, О.О Новиков, М.А. Халикова, В.С. Казакова // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. - 2011. - №4 (99). Выпуск 13/2. - С. 146 - 153.

39. Завьялова, Т. Г. Профилактика и лечение кариеса в стадии белого пятна методом глубокого фторирования: дис. ... канд. мед. наук:14.00.21 / Завьялова Татьяна Геннадьевна. - Москва, 2003. – 130 с.

40. Калинин, И.П. Новый справочник химика и технолога. Аналитическая химия. Ч.1. / И.П. Калинин: под общ. ред. И.П. Калинин. – С.-Пб.: АНО НПО «Мир и Семья», 2002. – 964 с.

41. Камина, Т.В. Выбор реминерализирующего препарата вопрос серьезный / Т.В. Камина // Вісник проблем біології і медицини. –2013. - Вип. 4, Том 1 (104). – С. 53 - 56.

42. Кириллова, Е.В. Изучение эффективности реминерализующего геля с ксилитом в комплексном лечении кариеса зубов у детей раннего возраста / Е.В. Кириллова // Сборник материалов Первой научно- практической конференции молодых ученых “Инновационная Наука – эффективная практика”. – ЦНИИС, Москва. - 2010. – С. 43 - 46.

43. Кисельникова, Л.П. Микробиологический мониторинг состояния биопленки зуба при применении хлоргексидина и ксилита в комплексном лечении кариеса у детей раннего возраста / Л.П. Кисельникова, Е.В. Кириллова, В.Н.

Царев, В.О. Артемова // Стоматология детского возраста и профилактика. - 2009. - № 2. - С. 74 - 82.

44. Кобиясова, И.В. Опыт применения аппликационного геля «R.O.C.S. Medical Minerals» профилактике и лечении кариеса в стадии пятна / И.В. Кобиясова // Клиническая стоматология. - 2009. — № 2. — С. 72 - 74.

45. Коваленко, И.П. Теоретическое обоснование использования реминерализующих препаратов и физических факторов при лечении неосложненного перелома коронки зуба / И.П. Коваленк // Современная стоматология. - 2015. - №2. - С.18 - 22.

46. Колесник, А.Г. Эффективное и безопасное применение фторида в стоматологии / А.Г. Колесник. - М., 2008. - 132 с.

47. Колпаков, В.В. Физиологические основы профилактики стоматологических заболеваний / В.В. Колпаков, А.В. Брагин, А.Л. Иванова, А.В. Старикова // Материалы IX и XI Всероссийских и научно-практических конференций и Труды VIII съезда Стоматологической Ассоциации России. – Москва. - 2003. – С. 313 - 315.

48. Конова, Е.Ю. Сравнение эффективности применения реминерализующих средств на основе фосфата кальция после использования брекет-систем [электронный ресурс] / Е.Ю. Конова, А.А. Бурцев // Школа-конференция студентов и молодых ученых «Практическая биомеханика в стоматологии», посвященная Всемирному дню стоматологического здоровья (WOHD - 2017). – Режим доступа: <https://medconfer.com/node/12129>.

49. Коренман, И.М. Микрористаллоскопия / И.М. Коренман. – Москва: Государственное научно-техническое издательство химической литературы, 1955. – 432 с.

50. Корнеева, Н.М. Социально психологические аспекты в вопросах профилактики стоматологических заболеваний у студентов вузов / Н.М. Корнеева, А.В. Михальченко // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 10. – С. 35 – 38.

51. Корпачев, В.В. Сахара и сахарозаменители / В.В. Корпачев. – Киев: Книга плюс, 2004. – 320 с.
52. Кудакова, Д.В. Обоснование применения местных фторидсодержащих средств в профилактике стоматологических заболеваний у 12-15-летних школьников г. Владикавказа: автореф. дис. ... канд. мед. наук.:14.01.14 / Кудакова Диана Валерьевна. - Москва, 2012. – 24 с.
53. Кузнецов, А.В. Корригенты вкуса в производстве лекарств / А.В. Кузнецов, А.А. Кузнецов // Фармация. - 2011. - № 2. - С. 53 - 56.
54. Кузьмина, Э.М. Программа изучения интенсивности стоматологических заболеваний среди населения России / Э.М. Кузьмина, Т.А. Смирнова // Российский стоматологический журнал. – 2002. – № 1. – С. 34 - 35.
55. Кузьмина, Э.М. Современные подходы к профилактике кариеса зубов / Э.М. Кузьмина // Dental Forum. - 2011. - № 2. – С. 2 - 9.
56. Кузьмина, Э.М. Стоматологическая заболеваемость населения России / Э.М. Кузьмина. - М. : МГМСУ, 2009. – 225 с.
57. Лебединец, О.В. Изучение ряда реопараметров гелевой основы с гидроксипропилцеллюлозой / О.В. Лебединец, И.И. Баранова, И.М. Грубник // Актуал. питання фармац. і мед. науки та практики: науково - практичний журнал. - 2010. - Вип. 23, N 1. - С. 55 - 57.
58. Леонтьев, В.К. Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии / В.К. Леонтьев, Ю.А. Петрович. – Омск, 1976. – 89 с.
59. Леонтьева, Е.Ю. Реминерализующая терапия с использованием Tooth Mousse и MI Paste (GS) / Е.Ю. Леонтьева, О.Е. Ткачук, И.Б. Нектаревская // Проблемы стоматологии. - 2012. - № 1. - С. 31 - 35.
60. Леус, П.А. Микробный биофильм на зубах. Физиологическая роль и патогенное значение / П.А. Леус. -М.: Издательский Дом «СТВООК», 2008. – 88с.
61. Лобко, С.С. Фторсодержащие зубные пасты и здоровье полости рта / С.С. Лобко, О.А. Шульга // Медицинские новости. – 2015. - № 3. - С. 29 - 31.

62. Ломиашвили, Л.М. Минимально-инвазивные методы лечения кариеса зубов / Л.М. Ломиашвили, Д.В. Погадаев, М.Б. Елендо, С.Г. Михайловский // Клиническая стоматология. – 2010. - № 1. – С. 30 - 33.

63. Манукян, А.А. Сравнительный анализ эффективности лечения деминерализованных очагов с применением глицерофосфата кальция и пластин «ЦМ2 с кальцием» [Электронный ресурс] / А.А. Манукян, М.М. Маркарян. - 2016. - Конференция № 25. – Режим доступа: <http://euroasia-science.ru/medicinskie-nauki/sravnitelnyj-analiz-effektivnosti-lecheniya-demineralizovannyx-ochagov-s-primeneniem-glicerofosfata-kalciya-i-plastin-cm2-s-kalciem/#sthash.Tl7KnEm9.dpuf>.

64. Мартынов, А.А. Повышение приверженности пациентов стационаров и амбулаторно-поликлинических подразделений к лечебно-реабилитационным программам и факторы, оказывающие влияние на комплаентность / А.А. Мартынов, Е.В. Спиридонова, М.М. Бутарева // Вестник дерматологии и венерологии. - 2012. - № 1. - С. 21 – 27.

65. Маслак, Е.Е. Проблемы внедрения фторидной профилактики кариеса зубов в Волгоградской области / Е.Е. Маслак, В.Н. Наумова, Д.И. Фурсик, А.С. Родионова, Н.А. Лунева, Т.Н. Каменнова // Лекарственный вестник. – 2013. – Т. 7, № 2 (50). – С. 26 – 31.

66. Мельникова, Т.Н. Разработка состава, технологии и стандартизация стоматологических лекарственных пленок реминерализирующего действия: дис... канд. фарм. наук: 15.00.01, 15.00.02/ Мельникова Татьяна Николаевна. – Пермь, 1996. – 142 с.

67. Меркурьева, Г.Ю. Подбор основы для стоматологических пленок / Г.Ю. Меркурьева, С.С. Камаева, А.Х. Фатихова // Здоровье – основа человеческого потенциала – проблемы и пути их решения. – 2012. – Выпуск № 2, Т. 7. – С. 855–856.

68. Мизина, П.Г. Влияние вспомогательных веществ на влагопоглощение и адгезию фито пленок / П.Г. Мизина, В.А. Куркин, В.А. Быков, О.И. Авдеева // Фармация. – 2000. – № 2. – С. 12 – 14.

69. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов: под редакцией Миронова А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.

70. Миронова, В. В. Способы диагностики, лечения и профилактики фиссурного кариеса постоянных зубов у детей / В.В. Миронова, В.В. Горячева, Т.А. Покручина, В.К. Залалдинова // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2011. - №4. - С. 54 - 59.

71. Митропанова, М.Н. Влияние буферной системы на реминерализацию твердых тканей зуба / М.Н. Митропанова, О.А. Павловская, М.С. Знейбат, Н.С. Сеницына // Проблемы стоматологии. – 2013. - № 2. – С. 69 - 75.

72. Михальченко, А.В. Сравнительная эффективность применения фторидов при профилактике и лечении патологии твердых тканей зубов / А.В. Михальченко, С.В. Гаврикова, Д.Ю. Дьяченко // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2016. - № 2 (50). – С. 54 - 58.

73. Михальченко, Д.В. Поражаемость зубов кариесом у студентов высших учебных заведений города Волгограда / Д.В. Михальченко, Н.М. Корнеева, Т.С. Чижикова, С.В. Дмитриенко, М.Р. Зинурова // Актуальные вопросы экспериментальной, клинической и профилактической стоматологии. Сборник статей. Волгоград. Изд-во ВолГМУ. - 2009. –Т. 66, № 1. – С. 203 – 209.

74. Николаевский, В.В. Ароматерапия. Справочник [Электронный ресурс] / В.В Николаевский. – Режим доступа: <http://library.aromazona.ru/nikolaevskiy/page/158.html>.

75. Новотоцких, А.А. Подходы к разработке готовой лекарственной формы - стоматологического геля для лечения заболеваний полости рта (обзорная статья) / А.А. Новотоцких, Д.О. Шаталов, С.А. Кедик, Е.С. Жаворонок, А.В. Панов, И.С. Иванов, А.В. Айдакова, С.В. Беляков, С.И. Бирюлин, А.В. Коваленко, Е.Н. Михайленко, А.С. Евсеева // Биофармацевтический журнал. - 2016. - Т.8 № 5. - С. 3 - 8.

76. Норберто Ровэри Статья-исследование реминерализация поверхности эмали: разное действие биомиметических апатитных нанокристаллов и

фторидных ионов [Электронный ресурс] / Норберто Ровэри, Элиза Батистелла, Клаудиа Летициа Бианки, Измаэла Фолтран, Микеле Яфиско, Марко Лелли, Алберто Налдони, Барбара Палаццо, Лиа Римондини. -2008. - Trans Tech Publications, Швейцария. – Режим доступа: <https://med-indigo.ru/education/article/statja-issledovanie-remineralizacija-poverhnosti-jemali/>.

77. Носырев Павел Валидация аналитических методик: теория и практика (часть 1. Теория) / Носырев Павел, Носырева Марина, Рассказова Татьяна, Корнеева Наталья // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2003. - № 11 – С. 62 - 65.

78. Обидченко, Ю.А. Разработка инновационной трансбуккальной лекарственной формы на основе пептидов российского производства: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.01 / Обидченко Юлия Анатольевна. – Москва, 2015. – 160 с.

79. Павленко, Л.Г Профилактика стоматологических заболеваний/ Л.Г. Павленко. – Полтава. - 2004.

80. Панкрушева, Т.А. К вопросу о более широком использовании производных целлюлозы в производстве лекарственных препаратов / Т.А. Панкрушева, Л.Н. Ерофеева // Тез. Докл. 2 Росс. Нац. Конгр. «Человек и лекарство» М. - 1995. - С. 33.

81. Панкрушева, Т.А. Обоснование использования гелей целлюлозы в качестве основ для создания мазей многофакторного действия / Т.А. Панкрушева, Л.В. Сурина, О.А. Медведева // Тез. докл. в сб. научных трудов. посв. 30-летию фарм. ф-та КГМУ – Курск. - 1997. - С. 132 - 134.

82. Патент РФ № 2245710. Способ профилактики кариеса // Дата подачи заявки 25.12.2001, дата публикации 10.02.2005.

83. Патент РФ 2356530 Средство для полоскания полости рта при протезном стоматите и пародонтите // Дата подача заявки 11.01.2008, дата публикации 27.05.2009.

84. Пашков, К.А. Зубоврачевание и стоматология в России: основные этапы и направления развития (IX–XX век): монография / К.А. Пашков; под ред. А.В. Тополянского. – Казань: Центр инновационных технологий, 2011. –304 с.

85. Персиц, М.М. Зубной налет: образование, свойства, состав и значение / М.М. Персиц, А.Г. Колесник, П.А. Леус // Стоматология. — 1977. — № 1. — С. 90 – 97.

86. Петрухина, О. М. Аналитическая химия. Химические методы анализа / Под ред. О. М. Петрухина.- М.: Химия, 1992. – 400 с.

87. Пиминов, А.Ф. Теоритические и технологические аспекты разработки новых лекарственных форм для стоматологии: автореф.дис. ...докт. фарм. наук / Пиминов Александр Фомич. –Харьков, 1990. – 47 с.

88. Приказ Минздрава России от 26.10.2015 № 751н "Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность".

89. Приказ Минздрава РФ от 21.10.1997 № 309 (ред. от 24.04.2003) "Об утверждении Инструкции по санитарному режиму аптечных организаций (аптек)"

90. Попруженко, Т.В. Профилактика основных стоматологических заболеваний / Т.В. Попруженко, Т.Н. Терехова.– М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 464 с.

91. Попруженко Т.В. Консультации по питанию на стоматологическом приеме. Способы и методы снижения кариесогенных эффектов сладких продуктов [Электронный ресурс] / Попруженко Т.В., Терехова Т.Н. – Режим доступа: <http://medbe.ru/materials/profilaktika-v-stomatologii/konsultatsii-po-pitaniyu-na-stomatologicheskom-prieme-sposoby-i-metody-snizheniya-kariesogennykh-eff/>.

92. Пуоджюнене, Г.И. Изучение реологических свойств из метилцеллюлозных гелевых основ / Г.И. Пуоджюнене, Н.И. Никульшина, А.С. Пуоджюнас // Химико-фармацевтический журнал. - 1989. - № 12. - С. 1256 - 1258.

93. Руководство ВОЗ по надлежащей практике организации производства (требованиям GMP) Часть 2. Валидация. – 1999г. – 166 с. [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://uphiq.org/templates/files/docs/voz_www624.pdf
94. Руководство по качеству воды для применения в фармации. Методические рекомендации. Руководитель редакционной группы: Н.В. Юргель, Москва – 2009. - 27 с.
95. Руле, Ж.Ф. Профессиональная профилактика в практике стоматолога: атлас по стоматологии / Ж.Ф. Руле, С. Циммер; пер. с нем. Т.Н. Тереховой и Т.В. Попруженко; под общ. ред. С.Б. Улитовского, С.Т. Пыркова. -М.: МЕДпресс-информ, 2010. – 367 с.
96. Рюмина, Т.Е. Биофармацевтические исследования пленок лекарственных анестезирующего и реминерализующего действия / Т.Е. Рюмина, А.Л. Голованенко // Современные проблемы науки и образования. – 2012. - № 1. – С. 253 - 253.
97. Рюмина, Т.Е. Изучение влияния наиболее значимых биофармацевтических факторов на высвобождение лекарственных средств из геля для реминерализации дентина / Т.Е. Рюмина, А.Л. Голованенко // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6 - 1. – С. 116 - 119.
98. Рюмина, Т.Е. Использование кондуктометрического метода анализа в фармакокинетических исследованиях биорастворимых лекарственных пленок «Крона» / Т.Е. Рюмина, Л.Н. Олешко, О.А. Блинова // Фармация. – 2001. - № 3. – С. 22 - 24.
99. Садовский, В.В. Корреляционная связь между интенсивностью кариеса и показателями минерализующего потенциала ротовой жидкости у детей разного возраста / В.В. Садовский, И.К. Новицкая // Российская Стоматология. – 2014. - Т. 7, № 2. - С. 54 - 56.
100. Сампиев, А.М. Современное состояние исследований в области создания стоматологических пленок / А.М. Сампиев, Е.Б. Никифорова, А.В. Соповская // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2016. - № 3 - 2. - С. 293 - 297.

101. Сарап, Л.Р. Использование R.O.C.S. Medical Minerals в стоматологической практике / Л.Р. Сарап, Е.А. Подзорова, С.К. Матело, Т.В. Купец // Клиническая стоматология. – 2005. – № 2. – С. 52 - 56.

102. Сарап, Л.Р. Использование «R.O.C.S. Medical Minerals» в стоматологической практике / Л.Р. Сарап, Е.А. Подзорова, С.К. Мателло [и др.] // Современная стоматология. – 2007. - №1. – С. 35 - 37.

103. Сарап, Л.Р. Сравнительные клинические исследования зубных паст, содержащих аминофторид и фторид натрия / Л.Р. Сарап, Е.А. Подзорова, Н.В. Терентьева // Стоматология детского возраста и профилактика - 2005. – Т. 4, № 3-4. - С. 84 - 87.

104. Селина, О.Б. Изменение минерального обмена твердых тканей зуба в рамках индивидуальной профилактики кариеса / О. Б. Селина // Морфофункциональные аспекты заболеваний твердых тканей зубов, пародонта и слизистой оболочки полости рта: сб. научных тр. — Воронеж, 2004. - С. 77 - 82.

105. Семенова, Е.Ф. Влияние эфирных масел на микроорганизмы различной таксономической принадлежности в сравнении с современными антибиотиками. Сообщение ii: действие мятного масла различного компонентного состава на некоторые грамотрицательные бактерии / Е.Ф. Семенова, Н.Н. Маркелова, Е.Б. Шульга, А.И. Шпичка, Е.В. Жученко, М.П. Марченко // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. - 2014. – № 4 (8). – С. 5 – 18.

106. Семкина, О.А. Вспомогательные вещества, используемые в технологии мягких лекарственных форм (мазей, гелей, линиментов, кремов) (обзор) / О.А. Семкина, М.А. Джавахян, Т.А. Левчук, Л.И. Гагулашвили, В.Ф. Охотникова // Химико-фармацевтический журнал. -2005. - Т. 39, № 9. - С. 45 -48.

107. Семкина, О.А. Обоснование состава геля эвкалимина на основе сравнительного изучения реологических параметров редкосшитых акриловых полимеров / О.А. Семкина, С.Н. Суслина, И.И. Краснюк // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. - 2004. - № 4. - С. 216 - 222.

108. Сливкин, А.И. Фармацевтическая технология Высокомолекулярные соединения в фармации и медицине / А.И. Сливкин; под редакцией И.И. Краснюка (ст.). М.: ГЭОТАР –Медиа, 2017. – 560 с.

109. Солдатенко, С.С. Эфирные масла - древнейшее лечебное средство [Электронный ресурс] / С.С. Солдатенко, В.В. Николаевский, Е.С. Кириленко, М.И. Гладун, Г.Ф. Кащенко, С.Н. Небрат, Т.В. Дыхнова. – 12 с. – Режим доступа: <http://litlife.club/bd/?b=51778>.

110. Средства, влияющие на обмен веществ в твердых тканях зуба [Электронный ресурс].– Режим доступа: http://studbooks.net/68162/meditsina/sredstva_vliyayuschie_obmen_veschestv_tverdyh_tkanyah_zuba.

111. Сысоева, О.В. Оценка эффективности средств для реминерализующей терапии / О.В. Сысоева, О.В. Бондаренко, С.И. Токмакова, Е.Г. Дударева // Оценка Проблемы стоматологии. - 2013. - № 3 - С. 32 - 35.

112. Тимофеева, А.А. Эффективность эндогенных средств в профилактике основных стоматологических заболеваний у подростков: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.14 / Тимофеева Анна Антоновна. – Ижевск, 2016. – 149 с.

113. Тихомиров, А.А. Методология использования эфирных масел для медицинских целей. [Электронный ресурс] / А.А Тихомиров // Никитский ботанический сад - Национальный научный центр, Ялта. – Режим доступа: <https://www.korolevpharm.ru/dokumentatsiya/efirnie-masla/primenenie-efirnykh-masel-v-medicine.html>.

114. Токмакова, С.И. Сравнительная оценка антимикробной активности стоматологических гелей / С.И. Токмакова, Ю.В. Луницына, Ю.В. Киященко // Проблемы стоматологии. - 2014. -№ 1. - С. 30 - 33.

115. Триус, Н.В. Общие требования и показатели качества ЛФ – пленки лекарственные / Н.В. Триус, В.Е. Чичиро, А.В. Суранова // Проблемы стандартизации и контроля качества ЛС: Сб. докл. межреспуб. конф., посвящ. 20-летию создания ГНИИКЛС МЗ –М., 1991. – Т. 1, Ч. 1. – С. 60 - 61.

116. Фатталь, Р.К. Сравнительная оценка клинической эффективности современных препаратов для реминерализующей терапии / Р.К. Фатталь, Ж.В. Соловьёва // Современные проблемы науки и образования. – 2014. - № 4. – С. 327.
117. Федоров, Ю.А. Клинические возможности применения современных реминерализующих составов у взрослых / Ю.А. Федоров, В.А. Дрожжина, С.К. Матело, С.А. Туманова // Клиническая стоматология. – 2008. – № 3. – С. 32 - 34.
118. Фрумина, Н.С. Аналитическая химия кальция / Н.С. Фрумина, Е.С. Кручкова, С.П. Муштакова. – М.: Наука, 1974.- 252 с.
119. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ /Р.У. Хабриев;под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
120. Хоменко, Л.А. Клинико-лабораторная оценка эффективности лечебно-профилактических зубных паст в профилактике кариеса / Л.А. Хоменко, Г.В. Сороченко // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2011. - Т. 7, № 1 (приложение). - С. 202 - 206.
121. Хоменко, Л.А. Современные средства экзогенной профилактики заболеваний полости рта. Практическое руководство / Л.А. Хоменко, Н.В. Биденко, Е.И. Остапко, В.И. Шматко. - Киев: «Книга плюс», 2001. – 208 с.
122. Хощевская, И.А. Особенности формирования мотивации врачей-стоматологов и пациентов к применению микроинвазивного лечения кариеса в стадии пятна / И.А. Хощевская, Е.Е. Маслак, В.Н. Наумова, Н.К. Исмаилова, Н.В // Клиническая стоматология. – 2012. – № 3 (63). – С. 4 – 7.
123. Чичерин, И.Ю. Выживаемость бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro* в желудочном соке и дуоденальном содержимом людей / И.Ю. Чичерин, И.В. Дармов, И.П. Погорельский, И.А. Лундовских, К.Е. Гаврилов // Медицинский альманах. - 2012. - №1. - С. 57 - 59.
124. Чуев, В.П. «Беллагель» — высокоэффективное средство реминерализации эмали и профилактики кариеса / [Электронный ресурс] / В.П.

Чуев, Л.А. Колченко // Стоматолог. – Режим доступа: http://www.provisor.com.ua/100matolog/archive/2001/5/art_39.htm.

125. Чупрунова, И.Н. Зависимость кариеса зубов от уровня гигиены полости рта у детей первого класса Нижнего Новгорода / И.Н. Чупрунова, Г.В. Кривулина, Е.Д. Пятова // Саратовский научно-медицинский журнал. -2011. - Т.7 №1 (приложение). -С. 323 - 325.

126. Шварценбах, Г. Комплексометрическое титрование / пер. с нем. Г. Шварценбах, Г. Флашка - М.: Химия, 1970 – 360 с.

127. Шакарьянц, А.А. Оценка эффективности лечения очаговой деминерализации в стадии дефекта методом инфильтрации в сочетании с различными реставрационными технологиями по результатам исследования *in vitro* / А.А. Шакарьянц, А.В. Севбитов, Е.А. Скатова // Клиническая стоматология. – 2012. – № 4 (64). – С. 16 – 20.

128. Шаковец, Н.В. Слюна: значение для органов и тканей в полости рта в норме и при патологии / Н.В. Шаковец, Е.В. Лихорад // Медицинский журнал. - 2013. - № 3 - С.7 - 11.

129. Эльмар Хельвиг Фториды: механизм действия и рекомендации по применению [Электронный ресурс] / Эльмар Хельвиг, Иоахим Климек, Адриан Люсси Schweizer monatschrift fur zahnmedizin. -2012. - № 11. - С. 1037 - 1042. - Режим доступа: <https://dentalmagazine.ru/science/ftoridy-mexanizm-dejstviya-i-rekomendacii-po-primeneniyu.html>.

130. Яковлева, В.Я. Сравнительная оценка клинической эффективности (ближайший и отделенный период) различных методов лечения гиперстезии при эрозиях и клиновидных дефектах твердых тканей зуба / В.Я. Яковлева // Новое в стоматологии. -2003. - №4 (112). - С. 62 - 64.

131. Ярова, С.П. Современные принципы лечения начального кариеса/ С.П. Ярова, В.В. Саноян // Український стоматологічний альманах. - 2014. – Выпуск № 2. – С. 108 - 111.

132. Al-Dlaigan, Y. H. Dental erosion in a group of British 14-year-old, schoolchildren— part I: prevalence and influence of differing socioeconomic

backgrounds /Y. H. Al-Dlaigan, L. Shaw, A. Smith // British Dental Journal. -2001. - V. 190, N. 3. - P. 145 – 149.

133. Bader, J.D. Design of the Xylitol for Adult Caries Trial (X-ACT) / J.D. Bader, D.A. Shugars, M.V. William, M.G. Gullion, G.H. Gilbert, B.T. Amaechi, J.P. Brown // BMC Oral Health. – 2010. - 10:22.

134. Bansal, K. Development of satranidazol mucoadhesiv gel for the treatment of periodontitis / Bansal K. [et al.] //AAPS PharmSciTech. -2009. - V. 10, № 3. - P. 716 - 723.

135. Baroni, C. MIH Supplementation Strategies: Prospective Clinical and Laboratory Trial / Baroni C. and Marchionni S. // Journal of Dental Research. - 2010. – V. 90 issue: 3. – P. 371 - 376.

136. Bhumika Badiyani Role of Saliva in Dental Practice – A Review Research and Reviews / Bhumika Badiyani, Amit Kumar, Viral Pravin Maru //Journal of Dental Sciences. -2013. – V. 1. Issue 1.

137. Cochrane, N.J. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel / N.J. Cochrane, F. Cai, N.L. Hug, M.F. Burrow, E.C. Reynolds // Journal of Dental Research. – 2010. - 89:1187.

138. Costa, C.C. Erosive effect of an antihistamine-containing syrup on primary enamel and its reduction by fluoride dentifrice / C.C. Costa, I.C. Almeida, L.C. Costa Filho // International Journal of Paediatric Dentistry. -2006. - V. 16, N. 3. - P. 174 – 180.

139. Christine A Riedy A surrogate method for comparison analysis of salivary concentrations of Xylitol-containing products/ Christine A Riedy // BMC Oral Health. – 2008. -8:5.

140. Deery, C. The prevalence of dental erosion in a United States and a United Kingdom sample of adolescents / C. Deery, M.L. Wagner, C. Longbottom, R. Simon, Z. J. Nugent // Pediatric Dentistry. -2000. - V. 22, N. 6. - P. 505 –510.

141. Dugmore C.R. The prevalence of tooth erosion in 12-year-old children / C.R. Dugmore, W.P. Rock //British Dental Journal. - 2004. - V. 196, N. 5. - P. 279 – 282.

142. Eric C Reynolds Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? [Электронный ресурс] Eric C Reynolds// Australian Dental Journal. - 2008. - 53(3): 268 - 73. – Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/23248073_Calcium_phosphate-based_remineralization_systems_Scientific_evidence.
143. Eubanks, D.L. The basics of saliva / D.L. Eubanks, K.A. Woodruff / Eubanks D.L. // J. Vet. Dent. - 2010.- V. 27,4. - P. 266 - 267.
144. European Food Safety Authority «Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request Journal of Nanomaterials 9 from the Commission related to the tolerable upper intake level of fluoride»/ The EFSA Journal. -2005. -V. 192. - P. 1 – 65.
145. Exterkate, R.A.M. A Single-section Model for Enamel De- and Remineralization Studies. 1. The Effects of Different Ca/P Ratios in Remineralization Solutions / R.A.M. Exterkate, J.J.M. Damen, J.M. Cate Ten //Journal of Dental Research. – 1993. - 72: 1599.
146. Featherstone J.D. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride/ J.D. Featherstone // Comm. Dent. Oral Epid. – 1999. – V. 27, N. 1. – P. 31 - 40.
147. Ferda Dogan Effect of different fluoride concentrations on remineralization of demineralized enamel: an in vitro pH-cycling study/ Ferda Dogan, Arzu Civelek, Inci Oktay Istanbul, Turkey // OHDMBSC. -2004.- V. III - N. 1.
148. Franz-Montan M. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa/ Michelle Franz-Montan, André LR Silva, Karina Cogo, Cristiane de C Bergamaschi, Maria C Volpato, José Ranali, Eneida de Paula, Francisco C Groppo // Jornal of Liposome Research. - 2013. - V. 23 (1). - P. 54 – 60.
149. Guideline on Fluoride Therapy [Электронный ресурс] / Clinical practice guidelines. – V. 37. – N. 6. - 15/16. – Режим доступа: <http://www.pdf-pages.com/preview/2vBLD8T45nywDMDlD5g3MjBsWrqtuQSJ9p223fqdYaA./Guideline-on-Fluoride-Therapy-aapd-org.html?query=Safe-drinking-water-interventions-for-home-and>.

150. Gupta H. Singh RM, pH- induced In-situ gel for periodontal anesthesia. / H. Gupta // *Indian J Pharm Sci.* 2008. - V. 70 (6). – P. 776 – 778.
151. Hughes, J.A. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ 1. Comparison with orange juice/ J.A. Hughes, N.X. West, D.M. Parker, R.G. Newcombe, M. Addy // *Journal of Dentistry.* -1999. - V. 27, N. 4. - P. 285 – 289.
152. Hughes, J.A. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 3. Final drink and concentrate, formulae comparisons in situ and overview of the concept / J.A. Hughes, N.X. West, D.M. Parker, R.G Newcombe., Addy M. // *Journal of Dentistry.* -1999. -V. 27, N. 5. - P. 345 –350.
153. John, E. A comparison of sodium fluoride, stannous fluoride and acidulated sodium fluorophosphate as agents for fluoridization / John E. Butts D. M. D., M. P. H. // *Journal of Public Health Dentistry.* -1966. - P. 313 – 330.
154. Kiet A Ly. Xylitol gummy bear snacks: a school-based randomized clinical trial / Kiet A Ly. // *BMC Oral Health.* – 2008. - 8:20.
155. Kitchens, M. Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high-energy drinks, and bottled water on the in vitro erosion characteristics of dental enamel / M. Kitchens, B. M. Owens // *Journal of Clinical Pediatric Dentistry.* -2007. - V. 31, N. 3. - P. 153 – 159.
156. Klinke, T.H. Induction of caries-like lesions by *Candida albicans* in an artificial mouth/ T.H. Klinke, W. Klimm // *Caries Res.* - 2002. - 36:3. - (Abstrs.195 - 196).
157. Laurence J. Walsh Contemporary technologies for remineralization therapies: A review/ Laurence J. Walsh // *International Dentistry Sa.* – 2009. - V. 11, N. 6.– P. 6 - 16.
158. Laurence J. Walsh. Современное состояние средств реминерализации эмали / J. Laurence Walsh. // *Проблемы стоматологии.* – 2010. - V. 4. – P. 17 - 20.
159. Laurylene Cesar de Souza Vasconcelos Minimum Inhibitory Concentration of Adherence of *Punica granatum* Linn (pomegranate) Gel Against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*/ Laurylene Cesar de Souza Vasconcelos, Fabio Correia Sampaio, Maria

Carmelia Correia Sampaio, Maria do Socorro Vieira Pereira, Jane Sheila Higino, Maria Helena Pereira Peixoto // *Braz Dent J.* –2006. - 17(3). – P. 223 - 227.

160. Luss, A. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention/ A. Lussi, E. Hellwig, D. Zero, T. Jaeggi // *American Journal of Dentistry.* -2006. - V. 19, N. 6. - P. 319 – 325.

161. Lussi, A. The role of diet in the etiology of dental erosion/ A. Lussi, T. Jaeggi, D. Zero// *Caries Research.* -2004. - V. 38, supplement 1. - P. 34 – 44.

162. Makarem, A. Efficacy of barberry aqueous extracts dental gel on control of plaque and gingivitis / A. Makarem, N. Khalili, R. Asodch // *Acta Medica Iranica.* – 2007. - V. 45, № 2. - P. 91 - 94.

163. Nikawa, H. In vitro cariogenic potential of *Candida albicans* / H. Nikawa, H. Yamashiro, S. Makihira, M. Nishimura, H. Egusa, M. Furukawa, D. Setijanto, T. Hamada // *Mycoses.* – 2003 –V. 46. - P. 471 - 478.

164. Prakash Sapra Development and optimization of in situ periodontal gel containing levofloxacin for the treatment of periodontal diseases / Prakash Sapra, Dhaval Patel, Moinuddin Soniwala, Jayant Chavda // *Journal of scientific and innovative research.* - 2013. - V. 2 (3). - P. 608 - 627.

165. Rajeshwari H. R Evaluation and Comparison of Desensitizing Potential of Novamin Containing Dentifrice and Gallium Aluminum Arsenide Diode Laser (GaAlAs) in the Treatment of Dentinal Hypersensitivity / H.R. Rajeshwari, A. Suchetha, Prajakta V Phadke, Koduru Sravani, N. Sapna, Divya Bhat // *International Journal of Health Sciences & Research.* - 2015. - V. 5; Issue: 9.

166. Reich, E. Профилактика кариеса сегодня / E. Reich // *Новое в стоматологии.* – 2011. - № 6 (178). – С. 6 - 15.

167. Robinson, C. Эффективность фторидов в лечении патологий зубов / Robinson C. // *Caries Research.* – 2004. - V. 38. – P. 268 - 276.

168. Schuhmacher, A Peppermint oil exhibits antiviral activity against herpes simplex viruses type 1 and 2, including an acyclovir resistant strain of HSV-1/A Schuhmacher, J Reichling, P Schnitzler // *Phytomedicine.*– 2003 – V.10 (6 - 7).- P. 504 - 10.

169. Stookey, GK A critical review of the relative anticaries efficacy of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices/ GK Stookey, PF DePaola, JD Featherstone, O Fejerskov, IJ Moller, S Rotberg, KW Stephen, JS Wefel // *Caries Res.* – 1993. – V. 27 (4). – P. 337 - 360.

170. Vahid Golpayegani M. Remineralization Effect of Topical NovaMin Versus Sodium Fluoride (1.1%) on Caries-Like Lesions in Permanent Teeth/ M. Vahid Golpayegani, A. Sohrabi, M. Biria, G. Ansari // *J Dent (Tehran).* – 2012. – V. 9 (1). - P. 68 - 75.

171. Vogel, G.L. Fluoride in Plaque Fluid, Plaque, and Saliva Measured for 2 hours after a Sodium Fluoride Monofluorophosphate Rinse./ G.L. Vogel, Y. Maob, L.C.

172. Wiegand, A. Occupational dental erosion from exposure to acids—a review/ A. Wiegand, T. Attin // *Occupational Medicine.* -2007. - V. 57, N. 3. - P. 169 – 176.

173. West, N. X. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 2. Comparison with a conventional blackcurrant juice drink and orange juice/ N.X. West, J.A. Hughes, D.M. Parker, R.G. Newcombe, M. Addy // *Journal of Dentistry.* -1999. - V. 27, N. 5. - P. 341 – 344.

174. West, N.X.A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel / N.X. West, A. Maxwell, J.A. Hughes, D.M. Parker, R.G. Newcombe, M. Addy//*Journal of Dentistry.* 1998. - Vol. 26, No. 4. - P. 329 – 335.

175. William, V. Molar incisor hypomineralization: review and recommendations for clinical management / V. William, L.B. Messer, M.F. Burrow // *Pediatr Dent.* – 2006. - V. (28). – P. 224 - 232.

176. White, D.J. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries; I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization / D.J. White // *Caries Res.* – 1987. V. 21. – P. 26 - 140.

177. Wolfgang H Arnold Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization/Wolfgang H Arnold, Andreas Dorow, Stephanie Langenhorst // *BMC Oral Health.* – 2006. - 6:8.

178. Yasuo Miake Remineralization effects of xylitol on demineralized enamel / Yasuo Miake//Journal of Electron Microscopy. – 2003. - V. 52(5). - P. 471 – 476.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ
КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ ФДПО И ФЗО

Утверждено
Ректор



А.Ю. Турышев

« 09 » _____ 2017 г.

Согласовано

Руководитель РИЦ «Фарматест»



Т.Л. Малкова

« 09 » _____ 2017 г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ИЗГОТОВЛЕНИЮ И КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА
ГЕЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ В
УСЛОВИЯХ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

Пермь, 2017

УТВЕРЖДАЮ



Зав. аптекой МСЧ № 140 ФГБУЗ
ПКЦ ФМБА России

Л.А.Иванова
(подпись) расшифровать подписи
«06» июня 2016г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных исследований,
выполненных на кафедрах фармацевтической технологии и химии
ФДПО и ФЗО
ГОУ ВПО ПГФА Минздрава России

Предложение для внедрения	Методические указания по изготовлению и контролю качества геля для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций
Разработчики	доц. Голованенко А.Л., доц. Березина Е.С., асп. Третьякова Е.В.
Место использования	Предложенная технология изготовления и методики контроля качества геля могут быть использованы для внутриаптечного изготовления и контроля указанной лекарственной формы
Когда внедрено	Июнь 2016
Эффективность внедрения	Предложенная технология изготовления и методики контроля качества позволяют изготовить и провести химический контроль качества геля для лечения кариеса эмали
Ответственный за внедрение: (должность, фамилия, подпись)	<i>Старший провизор Л.А. Иванова</i> <i>Иванова Л.А.</i>



Утверждено
Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава
России

А.Ю. Турышев

30 мая 2017 г.

Акт апробации

Предмет апробации: «Разработка методик контроля качества геля для лечения кариеса эмали по показателям «Подлинность» и «Количественное определение».

Разработчики, адрес исполнителя: доцент кафедры фармацевтической технологии Голованенко А.Л., к.ф.н., доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО Березина Е.С.; к.ф.н., аспирант кафедры фармацевтической технологии Третьякова Е.В. федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Крупской 46, (342)2825865.

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых методик в условиях лаборатории с целью включения их в Методические указания по изготовлению и контролю качества геля для лечения кариеса эмали.

Результат апробации: установлено, что методики являются специфичными для определения содержания активных компонентов в геле, характеризуются удовлетворительной прецизионностью, аналитическая область применения от 80% до 120% подтверждена линейной зависимостью количественных характеристик.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества лекарственного средства, методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

Руководитель РИЦ «Фарматест»
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России



Т.Л. Малкова

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ
КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ ФДПО И ФЗО

Утверждено
Ректор



А.Ю. Турьшев

2017 г

Согласовано

Руководитель РИЦ «Фармагест»



Т.Л. Малкова

2017 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ИЗГОТОВЛЕНИЮ И КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА
ПЛЕНОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
КАРИЕСА ЭМАЛИ В УСЛОВИЯХ АПТЕЧНЫХ
ОРГАНИЗАЦИЙ

Пермь, 2017

УТВЕРЖДАЮ



Зав. аптекой МСЧ № 140 ФГБУЗ
ЦКЦ ФМБА России

Л.А.Иванова
Л.А.Иванова

(подпись) расшифровать подписи
«06» июня 2016г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных исследований,
выполненных на кафедрах фармацевтической технологии и химии
ФДПО и ФЗО
ГОУ ВПО ПГФА Минздрава России

Предложение для внедрения	Методические указания по изготовлению и контролю качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций
Разработчики	доц. Голованенко А.Л., доц. Березина Е.С., асп. Третьякова Е.В.
Место использования	Предложенная технология изготовления и методики контроля качества пленок лекарственных могут быть использованы для внутриаптечного изготовления и контроля указанной лекарственной формы
Когда внедрено	Июнь 2016
Эффективность внедрения	Предложенная технология изготовления и методики контроля качества позволяют изготовить и провести химический контроль качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали
Ответственный за внедрение: (должность, фамилия, подпись)	<i>Старший провизор Л.А.Иванова</i> Л.А.Иванова

Утверждено

Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава
России



А.Ю. Турышев

2 июня 2017 г.

Акт апробации

Предмет апробации: «Разработка методик контроля качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали по показателям «Подлинность» и «Количественное определение».

Разработчики, адрес исполнителя: доцент кафедры фармацевтической технологии Голованенко А.Л., к.ф.н., доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО Березина Е.С., к.ф.н., аспирант кафедры фармацевтической технологии Третьякова Е.В: федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Крупской 46, (342)2825865.

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых методик в условиях лаборатории с целью включения их в Методические указания по изготовлению и контролю качества пленок лекарственных для лечения кариеса эмали.

Результат апробации: установлено, что методики являются специфичными для определения содержания активных компонентов в пленках лекарственных, характеризуются удовлетворительной прецизионностью, аналитическая область применения от 80% до 120% подтверждена линейной зависимостью количественных характеристик.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества лекарственного средства, методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

Руководитель РИЦ «Фарматест»
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России



Т.Л. Малкова



Согласовано
Ректор ФГБОУ ВО «Пермская
государственная фармацевтическая
академия» Минздрава России

А.Ю. Турышев

« 16 » *Турышев* 2017 г



Утверждено
Директор ООО «Пермфармация»

Трухачев В.Г.

« 16 » *Трухачев* 2017 г.

**ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ
на производство геля для лечения кариеса эмали
ОПР №**

Пермь, 2017 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
 Директор ОАО «Пермфармация»

Трухачев В.Г.
 « 16 апреля 2017 г.



АКТ
апробации в производственных условиях
результатов научно-исследовательской работы сотрудников кафедры
фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная
фармацевтическая академия» Минздрава России

1. Наименование предложения для внедрения.

Разработка состава и технологии геля для лечения кариеса эмали.

2. Разработчики предложения.

От ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» - доцент кафедры фармацевтической технологии Голованенко А.Л. и аспирант кафедры фармацевтической технологии Третьякова Е.В.

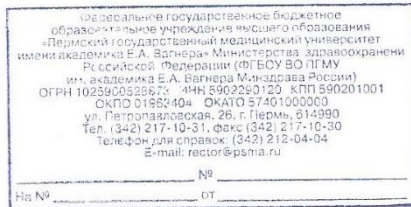
От ОАО «Пермфармация» - руководитель Производственной службы Л.П. Венажиндене.

3. Где использовано предложение.

Предлагаемый состав и технология геля для лечения кариеса эмали апробированы в ОАО «Пермфармация».

Руководитель
 Производственной службы
 ОАО «Пермфармация»

Л.П. Венажиндене



УТВЕРЖДАЮ

Главный врач стоматологической больницы
 клинического многофункционального
 медицинского центра ФГБОУ ВО
 Пермского государственного медицинского
 университета им. акад. Е.А. Вагнера
 Минздрава России

Поздеева О.В. Поздеева О.В.
 « 19 » *Июль* 2017 г.

АКТ

внедрения в практическую деятельность результатов диссертационной работы на соискание
 ученой степени кандидата фармацевтических наук Е.В. Третьяковой «Разработка состава,
 технологии и стандартизация геля и пленок лекарственных для лечения начального кариеса
 эмали»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя – заведующей
 терапевтическим отделением стоматологической больницы клинического
 многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера
 Минздрава России, врача высшей категории И.Л. Куш, членов комиссии: доцента кафедры
 стоматологии ФДПО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, врача высшей категории Г.А. Павловой,
 доцента кафедры стоматологии ФДПО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, врача высшей категории
 Р.Г. Першиной, удостоверяем, что результаты диссертационной работы на соискание ученой
 степени кандидата фармацевтических наук Е.В. Третьяковой «Разработка состава, технологии
 и стандартизация геля и пленок лекарственных для лечения начального кариеса эмали»
 используются для повышения эффективности профилактики и лечения начального кариеса
 эмали у детей школьного возраста и взрослых пациентов, давших информированное согласие
 на данный метод лечения.

Председатель

Куш

И.Л. Куш

Члены комиссии

Павлова Г.А. Павлова
Першина Р.Г. Першина



Утверждаю
 проректор по последипломному образованию
 и внебюджетной деятельности
 проф. Солонина А.В.
 «02» декабря 2013 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

в учебный процесс результатов научных исследований,
 выполненных на кафедрах фармацевтической технологии и
 фармацевтической химии ФДПО и ФЗО
 ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России

Предложение для внедрения	Методические указания по изготовлению и контролю качества геля для реминерализации эмали в условиях аптечных организаций
Разработчики	доц. Березина Е.С., доц. Голованенко А.Л., асп. Третьякова Е.В.
Место использования	Предложенные технология и методики контроля качества геля используются в обучающем симуляционном курсе в интернатуре по специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия»
Когда внедрено	02.12.2013
Эффективность внедрения	Предложенные технология и методики контроля качества позволяют провести изготовление и оценку качества геля для реминерализации эмали в условиях аптечных организаций

Ответственный за внедрение:
 Зав. каф. фармацевтической химии ФДПО и ФЗО,
 проф.

 Л.А. Чекрышкина

Утверждаю
 проректор по последипломному образованию
 и внебюджетной деятельности
 проф.  Солонина А.В.
 «08» декабря 2014 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

в учебный процесс результатов научных исследований,
 выполненных на кафедрах фармацевтической технологии и
 фармацевтической химии ФДПО и ФЗО
 ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России

Предложение для внедрения	Методические указания по изготовлению и контролю качества пленок для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций
Разработчики	доц. Березина Е.С., доц. Голованенко А.Л., асп. Третьякова Е.В.
Место использования	Предложенные технология и методики контроля качества пленок используются в обучающем симуляционном курсе в интернатуре по специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия»
Когда внедрено	08.12.2014
Эффективность внедрения	Предложенные технология и методики контроля качества позволяют провести изготовление и оценку качества пленок для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций

Ответственный за внедрение:
 Зав. каф. фармацевтической химии ФДПО и ФЗО,
 проф.



Л.А. Чекрышкина