

На правах рукописи

Третьякова Екатерина Владимировна

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

14.04.01 – технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Пермь - 2017

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

кандидат фармацевтических наук, доцент

Голованенко Анна Леонидовна

Официальные оппоненты:

Панкрушева Татьяна Александровна - доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармацевтической технологии;

Лосенкова Светлана Олеговна - доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармацевтической технологии

Ведущая организация:

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск.

Защита диссертации состоится «22» декабря 2017 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2, тел. (342) 233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 патология 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 (Атежанов Д.О., 2016 г, Кузьмина Э.М., 2011 г, Попруженко Т.В., 2009 г).

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 (Атежанов Д.О., 2016 г, Кузьмина Э.М., 2002 г, Леус П.А., 2008 г).

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

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 и 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 фосфата 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 лекарственные формы (ЛФ) на основе полимеров – гели и пленки лекарственные (ПЛ), содержащие основные минерализующие компоненты: кальций, фосфат и фторид. Благодаря структурированному водному пространству в геле и ПЛ 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 ЛФ 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. Современный ассортимент реминерализующих средств представлен преимущественно монопрепаратами, эффективность которых недостаточна для полноценной реминерализующей терапии. На сегодняшний день не проводилось исследований по созданию ЛФ, одновременно содержащих фторид ион и высокие концентрации химически несовместимых ионов кальция и фосфата, которые легко высвобождаются и обеспечивают высокий реминерализующий потенциал при взаимодействии 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 подлинности и 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 в геле и ПЛ 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 фосфата и кальция 4:1 создает оптимальную среду для формирования устойчивых апатитоподобных структур, а низкая концентрация фторид иона, способствует преципитации апатитов, что обеспечивает высокий реминерализующий потенциал ЛФ.

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 минеральными компонентами 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 ЛФ 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 ЛФ, 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 для изготовления и контроля качества в условиях аптечной организации МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России; акт апробации от 30.05.2017 в условиях лаборатории РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России);

- методические указания по изготовлению и контролю качества ПЛ для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций (акт внедрения от 06.06.2016 для изготовления и контроля качества в условиях аптечной организации МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России; акт апробации от 02.06.2017 в условиях лаборатории РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России);

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

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

- результаты работы внедрены в практическую деятельность стоматологической больницы клинического многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (акт внедрения от 19.06.2017).

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 (акты внедрения от 02.12.2013, 08.12.2014).

Теоретическая и практическая значимость свидетельствуют о целесообразности разработки геля и ПЛ, 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 ПЛ.

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 и 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, 2013 г); всероссийской научно-практической конференции «Инновации в науке, технике и технологиях» (г. Пермь - 2013 и 2014 гг, г. Ижевск – 2014 г); 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, в условия аптечной организации МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России г. Перми, в производственные условия ОАО «Пермфармация», в условия РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, в практическую деятельность стоматологической больницы клинического многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России.

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» (г. Пермь, 2014 г).

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, заключение, 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 представляет собой обзор литературы на тему «Современное состояние проблемы возникновения кариеса эмали, методов его профилактики и лечения». В обзоре обобщены литературные данные по этиологии и патогенезу кариеса эмали. Приведено обоснование использования реминерализующей терапии, механизмов ее воздействия в сопоставлении с химическими основами процессов деминерализации, приведен обзор основных минерализующих компонентов рациональных для введения в реминерализующие препараты.

Представлен ассортимент местных лекарственных препаратов (ЛП) для проведения реминерализующей терапии, их физико-химические свойства и обоснованность применения в терапевтической стоматологии. Показана перспектива разработки новых, более эффективных и безопасных в применении аппликационных ЛФ – геля и ПЛ для лечения кариеса эмали, с возможностью сочетания основных минерализующих компонентов и предотвращения их несовместимости с соблюдением основных принципов реминерализующей терапии.

Глава 2 включает сведения о материалах и методах исследований, использованных в работе. В качестве активных фармацевтических субстанций использовали: кальция хлорид (ФС 42-0006-5675-04 Р.003964.01), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-1297-79), натрия фторид (ФС.2.2.0013.15). В качестве вспомогательных веществ для создания аппликационных ЛФ использовали натрий-карбоксиметилцеллюлозу (натрий-КМЦ) С75 (ТУ 6-55-39-90), метилцеллюлозу 35 (МЦ) (ТУ 2231-107-57684455-2003), глицерин (ФС.2.2.0006.15), воду очищенную (ФС.2.2.0020.15), в качестве корригента вкуса - ксилит (ГОСТ Р 53904-2010) и в качестве отдушки - эфирное масло мяты перечной (ТУ 9151-001-99535663-07).

Подлинность активных компонентов ЛФ подтверждали с использованием характерных реакций на катионы и анионы. Для количественного определения активных компонентов использовали титриметрические и инструментальные методы анализа, модифицированные с учетом специфики ЛФ. Количественное определение кальция хлорида в геле и ПЛ проводили методом комплексонометрии способом обратного титрования; натрия фторида в геле и ПЛ методом фотоэлектроколориметрии; калия фосфата двузамещенного в геле методом ацидиметрии, вариант вытеснения и в ПЛ методом фотоэлектроколориметрии. Валидацию методик подлинности и количественного определения активных компонентов ЛФ осуществляли согласно ОФС.1.1.0012.15, по показателям специфичность, правильность, линейность и внутрилабораторная прецизионность методик.

Для определения рН водных растворов ЛФ использовали метод потенциометрии, согласно ОФС.1.2.1.0004.15.

Структурно-механические показатели измеряли на ротационном вискозиметре «Rheotest 2.1» (Германия).

Определение потери в массе при высушивании ПЛ проводили согласно ОФС.1.2.1.0010.15.

В связи с отсутствием стандарта качества на ПЛ как на ЛФ, технологические параметры ПЛ исследовали по методикам, сформулированным в работах отечественных ученых Триуса Н.В (1991 г), Мельниковой Т.Н. (1996 г), Блиновой О.А. (1998 г), Голованенко А.Л. (2000 г), Ананьева В.Н. (2004 г).

Биофармацевтические исследования проводили методом кондуктометрии и методом диализа с кондуктометрическим контролем.

Микробиологическую чистоту определяли методом разведений согласно ОФС.1.2.4.0001.15. Антимикробную активность определяли согласно ОФС.1.2.4.0010.15 методом диффузии в агар, модифицированным с учетом специфики ЛФ.

Острую токсичность изучали на белых мышах при пероральном введении водных растворов геля и ПЛ.

Исследование противовоспалительной активности проводили по модели каррагенинового отёка на крысах при пероральном введении и при наружном нанесении ЛФ.

Реминерализующую активность изучали на визуально интактных зубах, удаленных по ортодонтическим и ортопедическим показаниям у лиц 20-35 лет, методом определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* и гистологическими исследованиями.

Глава 3 содержит изложение основных этапов разработки состава, технологии и стандартизации геля для лечения кариеса эмали.

Выбор активных компонентов геля проводили 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, согласно основным требованиям реминерализующей терапии: содержание водорастворимых соединений фтора, кальция и фосфатов в превалировании фосфатов над кальцием в соотношении 4:1. При выборе активных компонентов также учитывали способность окрашивать ткани полости рта, неприятный вкус, кислотное растворение реставрационных материалов, сочетаемость с другими компонентами препарата и стоимость. В качестве активных компонентов выбраны субстанции кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида, в качестве корригента вкуса - ксилит, что связано с его противокариозными свойствами и в качестве отдушки - масло мяты перечной, дополняющее терапевтический эффект и придающий ЛФ освежающий вкус.

Из высокомолекулярных веществ, наиболее часто использующихся в составе стоматологических гелей, выбраны водорастворимые производные целлюлозы МЦ и натрий – КМЦ, природный полисахарид - натрия альгинат, характеризующиеся биоинертностью, высокой чистотой и доступностью, разрешенные к применению в фармацевтической и косметологической промышленности. Вышеуказанные полимеры в концентрации от 3 до 6% образуют прозрачные устойчивые в широком диапазоне рН гели без вкуса и запаха. Для пластификации использовали глицерин в концентрации от 10 до 20%. В качестве основ изучено 45 композиционных составов, из них по предварительным органолептическим показателям отобрано 11 композиций, представленных в таблице 1.

Таблица 1 - 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 отобранных составов проводили, исследуя реологические характеристики. Исследование реологических показателей проводили под руководством доцента кафедры общей и органической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Рюминой Т.Е. Для оценки консистенции геля строили реограммы течения в диапазонах скоростей сдвига 0,556 – 243 с⁻¹, которые сопоставляли с графическим отображением реологического оптимума намазываемости гидрофильных основ (рисунок 1). Установлено, что в реологические оптимумы АБ и ВГ вошли составы № 2 и № 9.

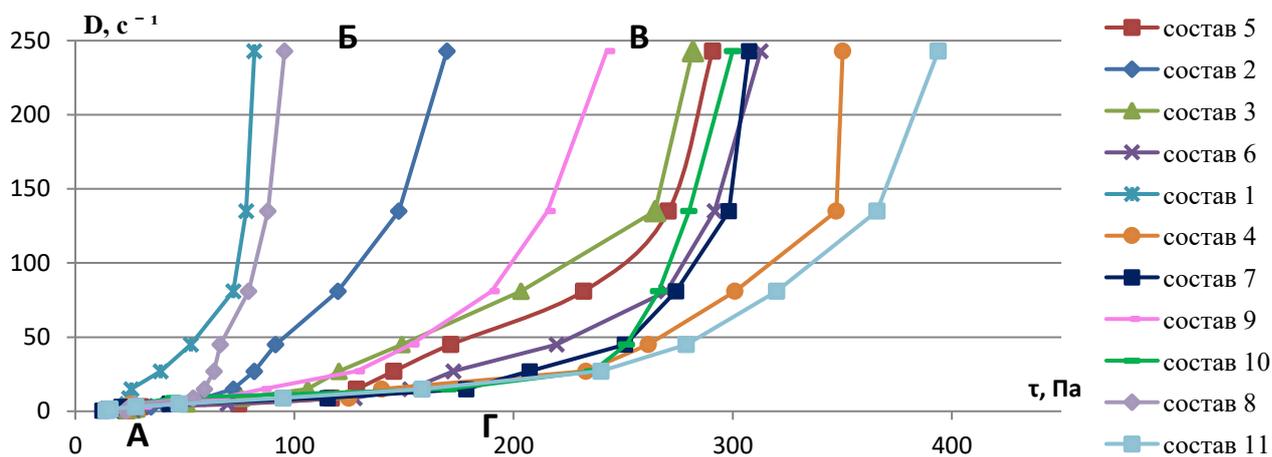


Рисунок 1 - Реограммы течения гелей для лечения кариеса эмали на гидрофильных основах

Результаты дальнейшего изучения реологических характеристик выбранных составов графически представлены на рисунках 2 и 3. Установлено, что гели являются структурированными упруго-вязко-пластичными системами и обладают тиксотропными свойствами, что обеспечивает хорошую намазываемость и способность выдавливаться из туб.

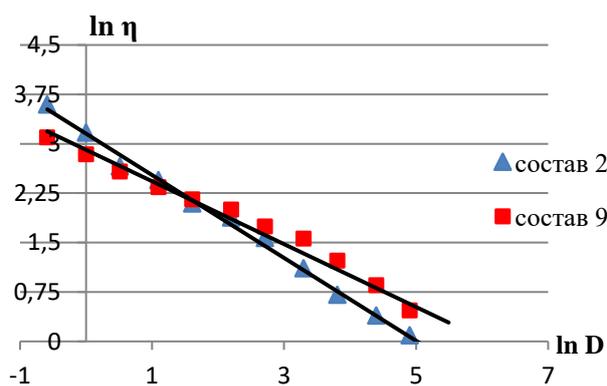


Рисунок 2 - Зависимость вязкости от скоростей сдвига гелей для лечения кариеса эмали

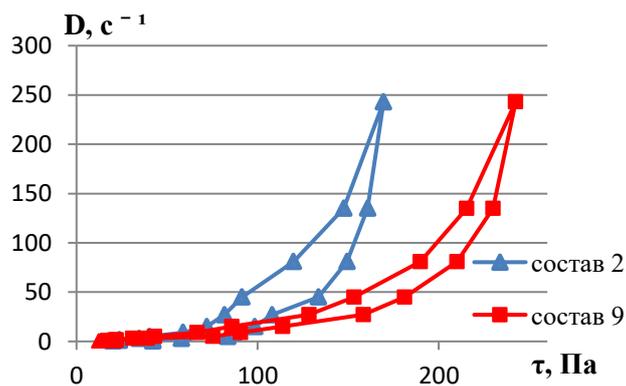


Рисунок 3 - Реограммы течения гелей для лечения кариеса эмали

Выбор оптимального состава геля для лечения кариеса эмали, проводили оценивая степень высвобождения композиций № 2 и № 9 диализным методом с кондуктометрическим контролем, результаты представлены на рисунке 4.

Средняя скорость растворения составила для состава № 2 – $4,1 \cdot 10^{-3}$ г/л*с и для состава № 9 - $3,7 \cdot 10^{-3}$ г/л*с. Анализ данных, представленных на рисунке 4, свидетельствует о том, что максимальное высвобождение активных компонентов из состава № 2 на натрий-КМЦ наблюдается на 27 минуте, из состава № 9 на МЦ на 36 минуте. Композиция состава № 2 высвобождает ЛС быстрее по сравнению с составом № 9. На основании полученных результатов дальнейшие исследования проводили на композиции состава № 2.

Далее исследовали кинетические закономерности высвобождения активных компонентов из геля кондуктометрическим методом, результаты представлены на рисунке 5. Установлено, что максимальное высвобождение основных действующих компонентов происходит на 15-20 минуте, это определяет оптимальную продолжительность аппликации геля 15-20 минут.

При изучении влияния внешних факторов на кинетику высвобождения установлено, что повышение температуры и перемешивание увеличивает скорость релиза, а изменение межфазной поверхности не оказывает существенного влияния.

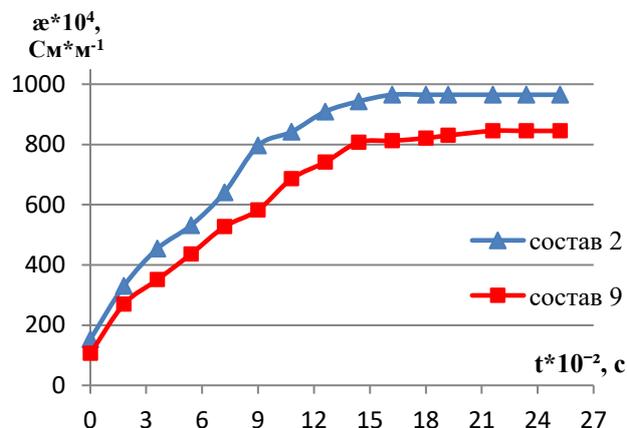


Рисунок 4 - Кинетика высвобождения активных компонентов из гелей для лечения кариеса эмали разного состава, метод диализа с кондуктометрическим контролем

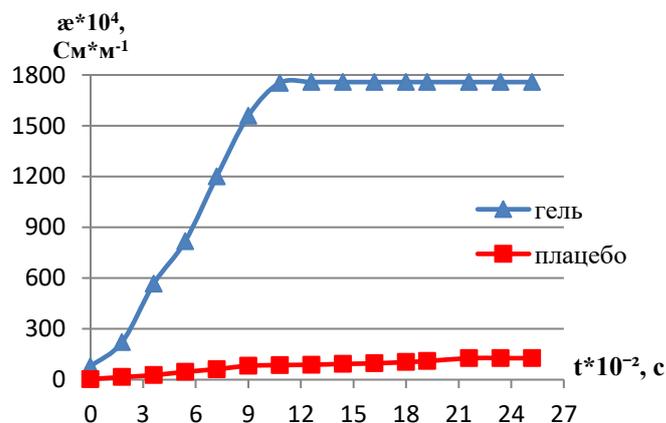


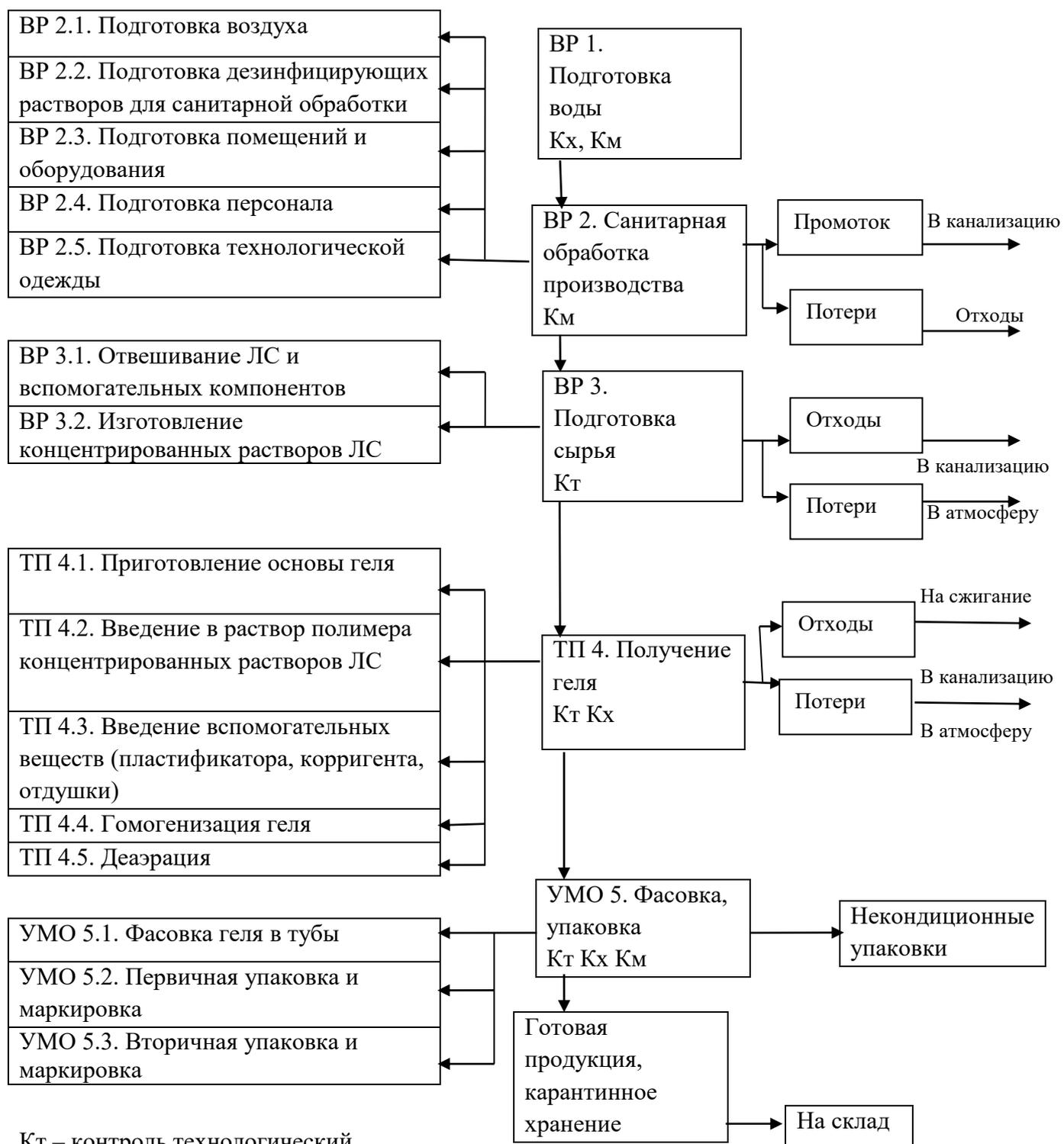
Рисунок 5 - Кинетика высвобождения активных компонентов из геля для лечения кариеса эмали и геля плацебо, метод кондуктометрии

Определены константы растворения геля и плацебо, значения констант растворения составили: $k_{\text{раств.геля}} (\text{метод диализа}) = 2,03 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств.плацебо}} (\text{метод диализа}) = 1,20 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств.геля}} (\text{метод кондуктометрии}) = 2,41 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств.плацебо}} (\text{метод кондуктометрии}) = 1,85 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$. Константы растворения геля больше в сравнении с плацебо, что объясняется ослаблением межмолекулярных связей при введении в гель активных компонентов.

Таким образом, основываясь на вышеприведенных данных, 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

Разработана технология производства геля для лечения кариеса эмали в промышленных условиях, включающая стадии и операции, представленные на рисунке 6. На производственной базе предприятия ОАО «Пермфармация» проведена наработка опытных образцов, разработан и утвержден опытно-промышленный регламент на производство геля для лечения кариеса эмали (16.04.2017). Также разработана технология изготовления геля для лечения кариеса эмали, которая апробирована в условиях аптечной организации МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России г. Перми. Технологические схемы изготовления геля соответствуют традиционным подходам, но имеют особенности на технологической операции «Получение геля». На этой стадии необходимо соблюдать последовательность, скорость введения компонентов, скорость перемешивания и интервал гомогенизации.



Кт – контроль технологический
 Кх – контроль химический
 Км - контроль микробиологический

Рисунок 6 - Технологическая схема производства геля для лечения кариеса эмали

Изучение валидационных характеристик методик подлинности и количественного определения основных действующих компонентов геля для лечения кариеса эмали проводили под руководством доцента кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Березиной Е.С. Установлено, что предложенные методики подлинности являются специфичными. Методики количественного определения также специфичны и характеризуются правильностью, внутрилабораторной прецизионностью и линейной

зависимостью в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию действующих веществ; коэффициенты корреляции составили: для натрия фторида - 0,9990, для кальция хлорида – 0,9992, для калия фосфата двузамещенного – 1,0000. На основании вышеуказанных данных установлено, что предложенные методики подлинности и количественного определения активных компонентов могут быть использованы для достоверной оценки качества ЛФ.

Проведена стандартизация геля для лечения кариеса эмали по показателям: «Подлинность», «Количественное определение» действующих веществ, «рН» и «Микробиологическая чистота», результаты представлены в таблице 2. 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.

В качестве тароупаковочного материала рекомендованы тубы пластиковые или алюминиевые с лаковым покрытием и с пластмассовыми бушонами.

Стабильность геля для лечения кариеса эмали при хранении определяли методом долгосрочных испытаний стабильности при температуре от 8 до 15⁰С и относительной влажности воздуха не более 60 \pm 5% в алюминиевых тубах с лаковым покрытием и пластмассовыми бушонами без вторичной упаковки. Исследование проводили на 5 сериях геля по показателям, представленным в таблице 3. Установлен срок годности геля для лечения кариеса эмали в течении 2-х лет.

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

Глава 4 содержит изложение основных этапов разработки состава, технологии и стандартизации ПЛ для лечения кариеса эмали.

Выбор фармакологически активных компонентов для включения в ПЛ произведен аналогично гелю, выбраны субстанции кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного в превалировании фосфатов над кальцием в соотношении 4:1, натрия фторида, в качестве корригента вкуса – ксилит и ароматической добавки - эфирное масло мяты перечной.

На основании многочисленных исследований проведенных Мельниковой Т.Н. (1996 г), Блиновой О.А. (1998 г.), Голованенко А.Л. (2000 г), Алексеевой И.В. (2007 г) оптимальным вариантом для создания ПЛ является полимерная матрица 3% водного раствора натрий-КМЦ с введением в качестве пластификатора глицерина в концентрации 2%, обладающая хорошими структурно-механическими свойствами, высвобождающей способностью и хорошей совместимостью с ЛС как химического, так и растительного происхождения.

Таким образом разработан следующий состав 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

Таблица 2 - Результаты стандартизации геля для лечения кариеса эмали

№ серии	Описание	Подлинность						Количественное определение			рН метод потенц иометрии	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 пироантимоната	F ⁻ с цирконил - ализариновым комплексом	CaCl ₂ комплексометрически 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

Таблица 3 – 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 пироксидом (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 комплексонометрии	[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	pH 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	

Структурно-механические характеристики поливочного раствора оказывают значительное влияние на морфологические характеристики ПЛ и параметры технологического процесса. При исследовании реологических показателей поливочного раствора установлено, что эффективная вязкость поливочного раствора падает с увеличением скорости сдвига и возрастанием касательного напряжения сдвига. Такая зависимость характеризует наличие структуры, следовательно, поливочный раствор ПЛ является псевдо-пластичным телом, легко перемешивается мешалкой и равномерно без сопротивления наносится на подложку с образованием однородной прозрачной пленки.

Исследование кинетики высвобождения проводили кондуктометрическим методом, результаты представлены на рисунке 7. Установлено, что растворение ПЛ происходит быстрее в сравнении с плацебо. Изучение кинетики набухания (рисунок 8) также подтверждает, что скорость набухания ПЛ значительно выше скорости набухания плацебо, $k_{\text{наб усл ПЛ}} = 3,1 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{наб усл плацебо}} = 1,4 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$.

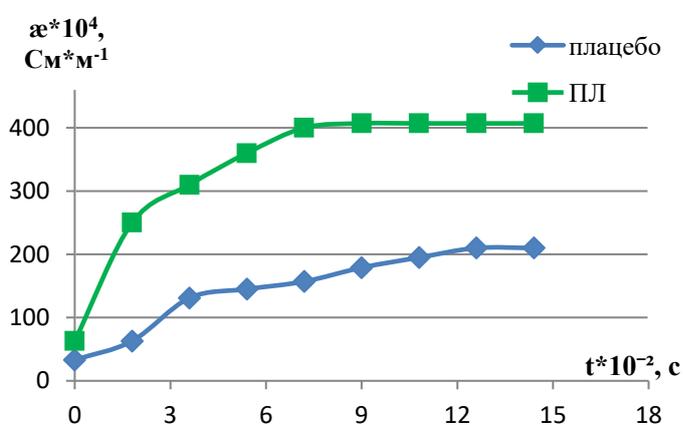


Рисунок 7 - Кинетика высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса эмали и плацебо, метод кондуктометрии

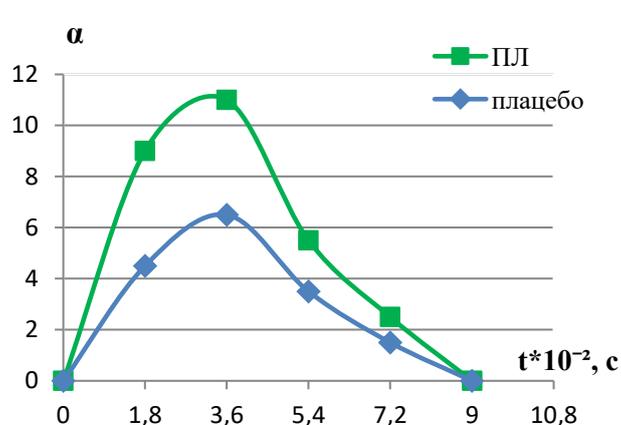


Рисунок 8 - Кинетические кривые набухания ПЛ и плацебо

Далее исследование проводили методом диализа с кондуктометрическим контролем, результаты графически отображены на рисунке 9, по результатам диализа определены коэффициенты диффузии при $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ k_d ПЛ = $1,24 \cdot 10^{-14}$ и k_d плацебо = $0,99 \cdot 10^{-14}$, коэффициенты диффузии при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ k_d ПЛ = $0,57 \cdot 10^{-14}$ и k_d плацебо = $0,50 \cdot 10^{-14}$. Дифференциальные кривые растворения ПЛ и плацебо представлены на рисунке 10. Значение скорости растворения проходит через максимум, 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.

Значение констант растворения при методе кондуктометрии составило: $k_{\text{раств}} \text{ ПЛ} = 1,67 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств}} \text{ плацебо} = 1,33 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$. Значение констант растворения при методе диализа составило: $k_{\text{раств}} \text{ ПЛ} = 4,17 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, $k_{\text{раств}} \text{ плацебо} = 2,78 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$. Константы растворения ПЛ больше, чем у плацебо, что объясняется ослаблением межмолекулярных связей при введении активных компонентов.

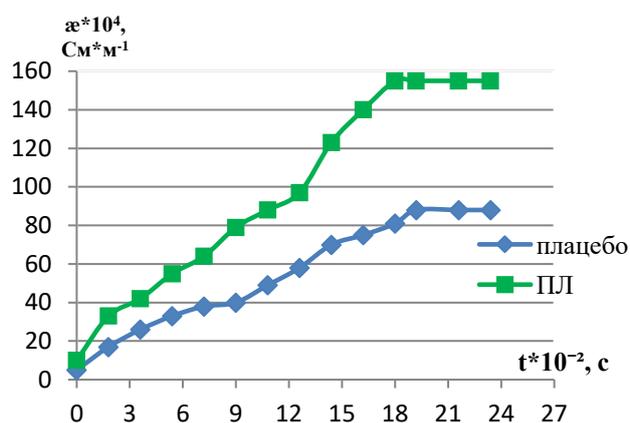


Рисунок 9 - Кинетика высвобождения активных компонентов из ПЛ для лечения кариеса эмали и плацебо, метод диализа

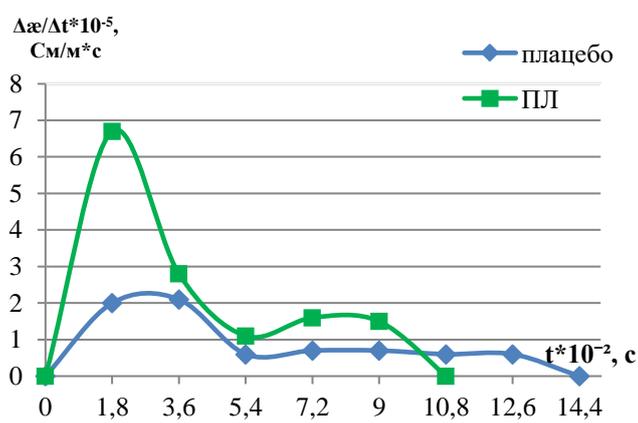


Рисунок 10 - Дифференциальные кривые растворения ПЛ и плацебо

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

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.

Разработанная технология изготовления ПЛ апробирована на базе аптечной организации МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА России г. Перми. Технологическая схема изготовления ПЛ соответствует традиционным подходам и имеет критические стадии при изготовлении, представленные в таблице 4.

Таблица 4 – Критические стадии при изготовлении ПЛ

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 и упаковка 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. Технологическая схема изготовления ПЛ для лечения кариеса эмали представлена на рисунке 11.

Проведена валидация методик подлинности и количественного определения активных компонентов в ПЛ для лечения кариеса эмали, исследована специфичность методик подлинности и критерии приемлемости методик количественного определения: специфичность, правильность, внутрилабораторная прецизионность, линейная зависимость в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию активных компонентов; коэффициенты корреляции составили для натрия фторида - 0,9991, кальция хлорида – 0,9994,

для калия фосфата двузамещенного – 0,9992, что позволяет использовать предложенные методики для достоверной оценки качества.

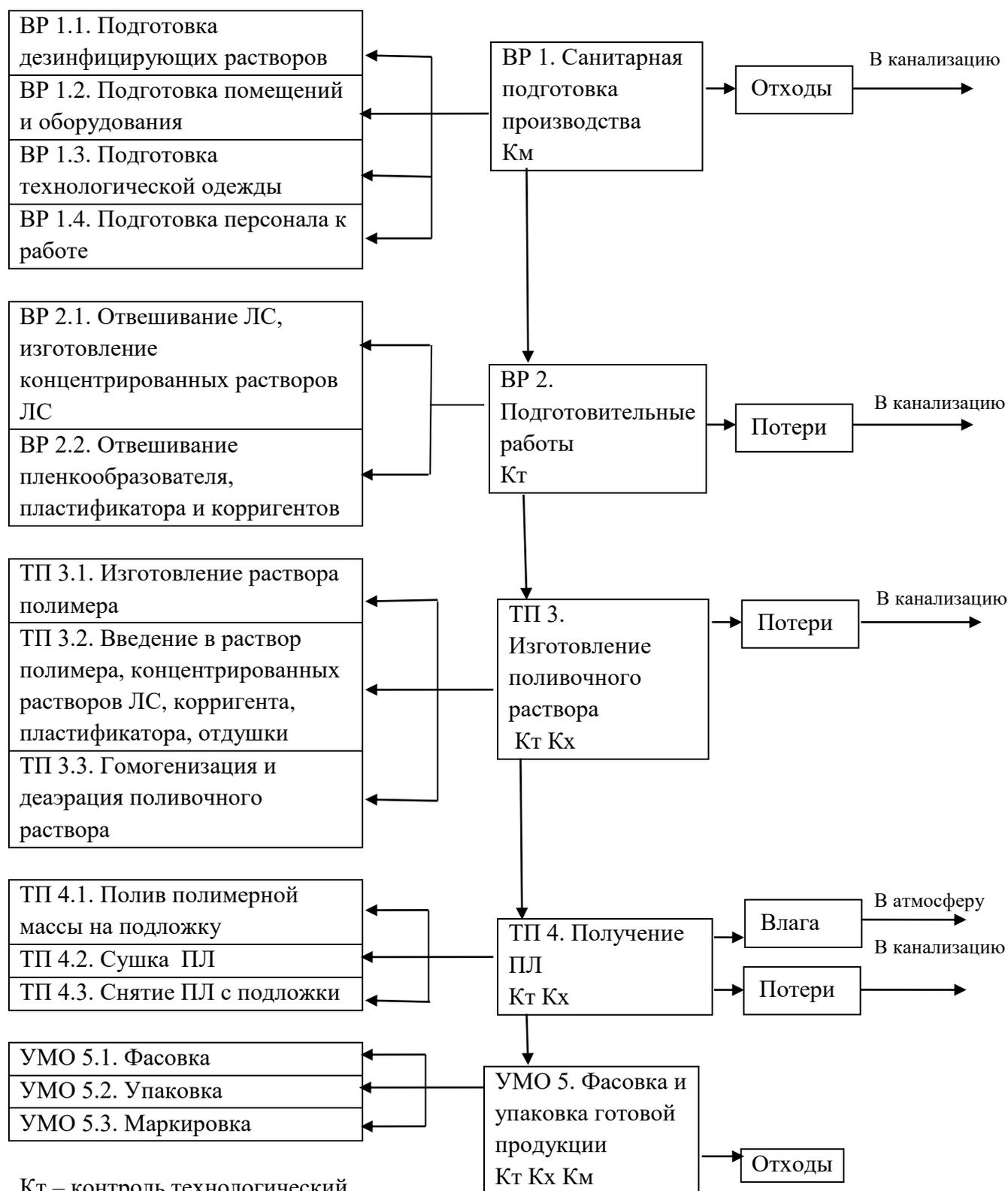


Рисунок 11 - Технологическая схема изготовления ПЛ для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций

Таблица 5 - Результаты стандартизации ПЛ для лечения кариеса эмали

№ сери	описание	технологические параметры					подлинность						количественное определение			микро биологическая чистота
		толщина, мм	средняя масса, г	время растворения, мин	pH	потеря в массе при высушивании, %	Ca ⁺² с серной кислотой разведенной 9,8%	Cl ⁻ с серебря нитратом раствора 2%	K ⁺ с натрия кобаль тинитром раствором 10%	HPO ₄ ⁻² с аммония молибдатом р-ра в серной к-те конц. и олова хлоридом р-ра 1%	Na ⁺ с раствором калия пироан тимоната	F ⁻ с циркони л-ализари новым комплекс сом	CaCl ₂ комплексомет рический метод	K ₂ HPO ₄ фотоэле ктрокол ориметр ический метод	NaF 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	кристаллы гипса в виде пучков, звезд или отдельных игл	белый творожистый осадок, Р в аммиака р-ре 10%	желтый кристаллический осадок	желто-зеленое окрашивание	кристаллы в виде призм	изменение окраски раствора от красно-фиолетовой до желтой	0,0038±0,000038	0,0067±0,00067	0,0001±0,00002	не более 10 ² КОЕ 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

Проведена стандартизация ПЛ для лечения кариеса эмали по показателям «Подлинность», «Количественное определение» активных компонентов, «Микробиологическая чистота», рН и технологическим параметрам (толщина, средняя масса, время растворения и потеря в массе при высушивании ПЛ), результаты представлены в таблице 5. 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.

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±5% в термосвариваемых полиэтиленовых пакетах без вторичной упаковки. Исследование проводили на 5 сериях ПЛ для лечения кариеса эмали. Определен срок годности ПЛ для лечения кариеса эмали в течении 2-х лет.

В главе 5 представлены результаты доклинических токсикологических и фармакологических исследований.

Острую токсичность ЛФ изучали на базе Пермского государственного национального исследовательского университета под руководством доцента кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности Махмудова Р.Р. 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 (индекс безопасности > 5).

Исследование антимикробной активности проводили под руководством заведующего кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, доцента Новиковой В.В. 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*.

Противовоспалительную активность исследовали на базе ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России под руководством заведующего кафедрой фармакологии, профессора Вдовиной Г.П., по модели каррагенинового отёка на крысах при пероральном введении и при наружном нанесении тестируемых препаратов в суточной дозе. На основании полученных результатов 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.

Исследования реминерализующей активности проводили методом определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* на базе РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России и гистологическими исследованиями на базе ГБУЗ ПК Краевой детской клинической больницы

под руководством заведующего патологоанатомической лабораторией Патлусовой Е.С. Интактные зубы, удаленные по ортодонтическим и ортопедическим показаниям у лиц 20-35 лет, предоставленные стоматологической больницей клинического многофункционального медицинского центра ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, хранили в термостате при температуре $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ в растворе искусственной слюны. Курс реминерализующей терапии гелем и ПЛ составил 14 дней при однократном применении. Результаты исследования методом определения кальция и фосфора в золе эмали представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Содержание кальция и фосфора (%) в золе эмали до и после прохождения курса реминерализующей терапии 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)

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

В результате проведенного гистологического исследования установлено, что применение геля и ПЛ обеспечивает восстановление эмали, сокращает количество разрывов и линейных трещин в структуре эмали, выравнивает эмалево-дентинную границу, устраняет отслоения эмали, что говорит о целесообразности лечебно-профилактического применения геля и ПЛ в качестве реминерализующих средств для восстановления дефектов эмали зуба. Морфометрическим методом определена толщина слоя эмали на поверхности зубов до и после прохождения курса реминерализующей терапии гелем и ПЛ, результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Значения толщины слоя эмали гистологических образцов до и после прохождения курса реминерализующей терапии гелем и ПЛ для лечения кариеса эмали

№ 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)

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.

Таким образом, проведенные доклинические исследования свидетельствуют о выраженной реминерализующей, противовоспалительной, противогрибковой активности и высокой безопасности разработанных ЛФ.

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 начального 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-вязкопластичной системой и обладает тиксотропностью.

3. На основании проведенных биофармацевтических исследований установлены кинетические закономерности высвобождения активных компонентов из геля и ПЛ, рассчитаны скорость высвобождения ЛС и коэффициенты диффузии, изучено влияние основных фармацевтических факторов на высвобождение ЛС из ЛФ, определено оптимальное время аппликации для геля 15 – 20 минут и ПЛ 15 минут.

4. Модифицированы с учетом специфики ЛФ и валидированы методики испытания на подлинность и количественного определения активных компонентов в геле и ПЛ. Установлено, что методики подлинности специфичны. Методики количественного определения также являются специфичными и характеризуются правильностью, внутрилабораторной прецизионностью и линейной зависимостью в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию активных компонентов. Коэффициенты корреляции для всех методик составили не менее 0,99. В процессе стандартизации ЛФ определены: 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 СТД (средняя терапевтическая доза массой $0,05 \pm 10\%$ г) ПЛ. 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 СТД ПЛ на всю поверхность зубной эмали в течении 14 дней.

7. Разработаны и утверждены РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России методические указания по изготовлению и контролю качества геля и ПЛ для лечения кариеса эмали в условиях аптечных организаций (г. Пермь, 2017 г), 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 экстемпоральное 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Третьякова, Е.В.** Разработка состава, технологии и стандартизация геля и пленок для реминерализации эмали / Е.В. Третьякова // Материалы VIII Студенческого регионального конкурса научных проектов по программе УМНИК 5 - 6 декабря 2013 г. Тезисы выступлений. - 2013. – С. 57 - 58.

2. Голованенко, А.Л. Рациональное использование реминерализующих лекарственных средств для лечения кариеса эмали и дентина / А.Л. Голованенко, **Е.В. Третьякова** // Ученые записки Орловского государственного университета. - 2014. - № 7 (63). – С. 35 - 36.

3. **Третьякова, Е.В.** Разработка состава, технологии и стандартизация геля и пленок для реминерализации эмали / Е.В. Третьякова // Всероссийская научно-практическая конференция «Инновации в науке, технике и технологиях» 28 - 30 апреля 2014: сборник статей. – Ижевск, Изд-во «Удмуртский университет». - 2014. – С. 267 - 268.

4. Стандартизация пленок для лечения кариеса эмали / А.Л. Голованенко, Е.С. Березина, **Е.В. Третьякова**, Р.Г. Першина [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. - № 9 (часть 5). – С. 1038 - 1041.

5. **Третьякова, Е.В.** Разработка состава, технологии и стандартизация геля и пленок для реминерализации эмали / Е.В. Третьякова // Материалы X Студенческого регионального конкурса научных проектов по программе УМНИК 27 - 28 ноября 2014 г. Тезисы выступлений. - 2014. – С. 115 - 118.

6. Разработка методик определения фосфатов в лекарственных пленках реминерализующего действия / Е.С. Березина, А.Л. Голованенко, И.В. Алексеева, **Е.В. Третьякова** // Фармация. - 2015. - № 1. – С. 7 - 9.

7. Валидация методик количественного определения компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали / **Е.В. Третьякова**, Е.С. Березина, А.Л. Голованенко, И.В. Алексеева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1 - 1. – С. 1863.

8. Биофармацевтические исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали / Т.Е. Рюмина, А.Л. Голованенко, **Е.В. Третьякова**, Е.С. Березина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 549.
9. Стандартизация геля для реминерализации эмали / А.Л. Голованенко, Е.С. Березина, **Е.В. Третьякова**, И.В. Алексеева // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. - Т. 49, № 12. - С. 47 - 50.
10. Рюмина, Т.Е. Исследование реологических свойств геля для лечения кариеса эмали / Т.Е. Рюмина, А.Л. Голованенко, **Е.В. Третьякова** // Сборник научных трудов по материалам IV Международной научно-практической конференции «Современные тенденции развития науки и технологий» 31 июля 2015 г.: в 6 ч. / Под общ. ред. Е.П. Ткачевой. – Белгород: ИП Ткачева Е.П., 2015. - Часть II. – С. 121 - 123.
11. Новикова, В.В Исследование антимикробной активности пленок лекарственных и геля для лечения кариеса эмали / В.В. Новикова, **Е.В. Третьякова** // Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста: материалы Всероссийской научной конференции студентов и молодых специалистов / редкол.: Р.Е. Калинин, В.А. Кирюшин, И.А. Сучков; ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: РИО РязГМУ, 2015. – С. 172 - 173.
12. **Третьякова, Е.В.** Валидация методик количественного определения компонентов геля для лечения кариеса эмали / Е.В. Третьякова // Сборник тезисов научных работ Международной научно-практической конференции «Научный диспут: актуальные вопросы медицины» Москва-Будапешт-Вена, 28 октября 2015 года / Международный научный центр, 2015. - С. 44 - 46.
13. **Третьякова, Е.В.** Исследование противовоспалительной активности пленок лекарственных и геля для лечения кариеса эмали / Е.В. Третьякова, А.Г. Гольдштейн, А.Л. Голованенко // Сборник публикаций Научно-информационного центра «Знание» по материалам IV международной заочной научно-практической конференции: «Развитие науки в XXI веке» г. Харьков: сборник со статьями (уровень стандарта, академический уровень). – Д.: научно-информационный центр «Знание», 2015. – С. 73 - 74.
14. Голованенко, А.Л. Создание рациональных лекарственных форм для лечения кариеса эмали и дентина / А.Л. Голованенко, **Е.В. Третьякова** // Вестник ПГФА по материалам научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: достижения, инновации, перспективы» 25 - 27 ноября, 2015. - № 16. – С. 34 - 35.
15. **Третьякова, Е.В.** Разработка состава геля и пленок для лечения кариеса эмали / Е.В. Третьякова // Тезисы VI международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения – 2015» Санкт-Петербург 2 - 4 декабря 2015. - С. 363.
16. Разработка технологии пленок лекарственных реминерализующего действия / А.Л. Голованенко, **Е.В. Третьякова**, И.В. Алексеева, Е.С. Березина // «Здоровье и образование в XXI веке» Журнал научных статей. - 2017. - Т. 19, № 6. - С. 138 - 141.
17. **Третьякова, Е.В.** Исследование острой токсичности гелей и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали и дентина / Е.В. Третьякова, Р.Р. Махмудов, А.Л. Голованенко // Биофармацевтический журнал. – 2017. - Т. 9, № 2. - С. 59 - 61.
18. Современный подход к разработке лекарственных форм для проведения реминерализующей терапии / А.Л. Голованенко, **Е.В. Третьякова**, Е.С. Березина, И.В. Алексеева // Медицинский альманах. – 2017. - № 2 (47). - С. 141 – 145.