

ДОКЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БЕЗПЕКИ ТА СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ТА ХОНДРОЇТИНУ СУЛЬФАТУ

О.В.Лебединець, І.А.Зупанець, І.І.Баранова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: стоматологія; гель; доклінічні дослідження

Протягом останнього часу в стоматологічній практиці широко застосовуються гелі для профілактики та лікування запальних захворювань пародонту. Нами розроблено новий стоматологічний гель, діючими речовинами якого є ефірні олії чайного дерева, евкаліпту та хондроїтину сульфат. Було проведено дослідження протизапальної дії зразків гелів з різною концентрацією діючих речовин на моделі карагенінового набряку кінцівок у мишей та на моделі зимозанового набряку у щурів. Отримані результати свідчать про наявність значної антиексудативної дії зразка стоматологічного гелю з концентрацією хондроїтину сульфату 1%, ефірних олій чайного дерева та евкаліпту по 2% (зразок №4). Активність розробленого стоматологічного гелю в 1,5 разів вища за дію препарату порівняння "Метрогіл Дента". Дослідження загальнотоксичних властивостей дозволяє віднести зразок гелю №4 до класу відносно нешкідливих речовин. Результати дослідження гострої подразнювальної дії показали, що гель №4 не викликає прямого подразнення шкіри.

На теперішній час успіх у лікуванні захворювань пародонту залежить, насамперед, від створення нових високоефективних лікарських препаратів для боротьби з патогенною мікрофлорою ротової порожнини та відновлення тканини ясен, кісткових структур [1, 3, 15, 16, 17]. В основі патогенетичних захворювань пародонту лежить ураження матриксу тканин ясен, надкисниці та кістки метаболітами бактеріальної флори. Зріла сполучна тканина пародонту складається в основному з сульфатованих глікозаміногліканів: хондроїтин4/6сульфату, дерматан сульфату, гепаран сульфату, кератан сульфату [1].

На основі проведеного патентного пошуку та мікробіологічних досліджень в якості діючих речовин були обрані ефірні олії чайного дерева та евкаліпту. Ефірна олія чайного дерева проявляє антисептичну, протизапальну, антигрибкову, імуностимулюючу, анальгезивну активність. Ефірна олія

евкаліпту володіє високою бактерицидною, дезодоруючою та протизапальною дією [3, 13, 14, 18]. Також у якості діючої речовини нами було обрано хондроїтину сульфат, який сприяє зменшенню запалення пародонту завдяки синергічній дії, направленої на зниження активності протеолітичних ферментів і гіалуронідази бактеріальної флори. Ця субстанція нормалізує обмін у клітинах епітелію та фібробластів ясен, що прискорює репаративні процеси в тканинах пародонту, відновлює судинну мікроциркуляцію, зв'язує велику кількість білка, що з'являється в патологічно змінених тканинах пародонту, сприяє їх відновленню [1, 12].

Формою випуску було обрано гель, який добре розподіляється та всмоктується слизовою, що зумовлює високу біодоступність діючих речовин. В'язкість формують компонентів сприяє зменшенню дифузії активних речовин та уповільнює розмивання їх сли-

ною, що дозволяє зберегти оптимальну концентрацію на локалізованій ділянці ясен [2, 4, 7, 8].

За допомогою технологічних, структурно-механічних та фізико-хімічних властивостей була розроблена гелева основа, яка за реологічними показниками та значенням рН відповідає вимогам щодо сучасних основ для стоматології [7, 8, 9].

Метою даного дослідження було обґрунтування оптимальної концентрації хондроїтину сульфату та обраних ефірних олій у гелі, а також вивчення загальнотоксичних властивостей даного засобу.

Матеріали та методи

Для проведення скринінгових досліджень протизапальної дії були приготовані зразки гелів з різним вмістом хондроїтину сульфату, ефірних олій чайного дерева та евкаліпту: з наступними концентраціями хондроїтину сульфату 0,5% (зразок №1), хондроїтину сульфату 1,0% (зразок №2), хондроїтину сульфату 1,5% (зразок №3), ефірної олії чайного дерева 2% (зразок №5), ефірної

Таблиця 1

Протизапальна активність зразків гелів на моделі карагенінового набряку у мишей (n=66)

Об'єкт дослідження	Кількість мишей	Різниця між набряклою та ненабряклою лапами, мг	Протизапальна активність, %
Контрольна патологія	7	0,186±0,014	-
Метрогіл Дента	7	0,148±0,009	20,43
Гель №1	7	0,160±0,012	13,98
Гель №2	7	0,156±0,011	16,13
Гель №3	6	0,152±0,013	18,28
Гель №4	7	0,128±0,009	31,18
Гель №5	6	0,162±0,014	12,90
Гель №6	6	0,161±0,025	13,44
Гель №7	7	0,159±0,013	14,52
Гелева основа	6	0,178±0,021	4,31

олії евкаліпту 2% (зразок №6), ефірних олій чайного дерева та евкаліпту по 2% (зразок №7), хондрітину сульфату 1% та ефірних олій чайного дерева, евкаліпту по 2% (зразок №4).

Дослідження протизапальної дії експериментальних зразків проводили на моделі карагенінового набряку кінцівок у мишей за здатністю попереджати розвиток ексудативного набряку згідно з рекомендаціямиДФЦ МОЗ України [5].

В експерименті використовували 66 самців білих мишей масою 20-22 г. Дизайн всіх досліджень включав формування 10 дослідних груп по 6 чи 7 тварин у кожній: 1 група — контрольна патологія; 2 група — тварини, що отримували гель “Метрогіл Дента” (препарат порівняння); 3 група — тварини, що отримували гель №1; 4 група — тварини, що отримували гель №2; 5 група — тварини, що отримували гель №3; 6 група — тварини, що отримували гель №4; 7 група — тварини, що отримували гель №5; 8 група — тварини, що отримували гель №6; 9 група — тварини, що отримували гель №7; 10 група — тварини, що отримували гелеву основу без додавання активних речовин.

Всі досліджувані об'єкти наносили на шкіру одноразово за 1 год до відтворення патології у дозі 20 мг/см². Асептичне ексудативне запалення викликали шля-

хом субплантарного введення у праву задню лапу 0,05 мл 1% розчину карагеніну. Через 3 год після цього тварин виводили з дослідження шляхом декапітації під ефірним наркозом та проводили ампутацію задніх кінцівок на рівні тазостегнового суглоба. Далі кінцівки зважували та розраховували абсолютну величину набряку по різниці між набряклою та здоровою стопою (ΔМ). Протизапальну активність оцінювали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримували дослідні об'єкти, в порівнянні з тваринами групи контрольної патології.

На наступному етапі досліджень вивчали вплив відібраних зразків гелів на ексудативну лейкоцитрієнзумовлену фазу запалення на моделі зимозанового набряку у щурів при нашкольному нанесенні (згідно з рекомендаціямиДФЦ МОЗ України) [5]. В експерименті було використано 40 білих нелінійних щурів обох статей масою 170-180 г, що розподілялись на 4 дослідні групи по 10 тварин: 1 група — контрольна патологія; 2 група — тварини, що отримували гель “Метрогіл Дента”; 3 група — тварини, що отримували гель №3; 4 група — тварини, що отримували гель №4.

Антиексудативну активність гелів оцінювали за здатністю попереджати розвиток набряку кін-

цівок у щурів у порівнянні з тваринами з контрольною патологією. Всі досліджувані об'єкти вводили нашкольно за 1 год до моделювання патології у дозі 20 мг/см². Через годину після цього у всіх тварин відтворювали патологію. Асептичне ексудативне запалення стопи у щурів викликали за допомогою зимозану — флогогену мікробного походження полісахаридної структури. Зимозан вводили тваринам субплантарно у стопу правої задньої лапи в об'ємі 0,1 мл у вигляді 2% суспензії. Об'єм набряку вимірювали в динаміці через 0,5, 1, 2 та 3 год після введення флогогену за допомогою механічного онкометра та відображували в умовних одиницях. Протизапальну активність оцінювали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримували дослідні об'єкти в порівнянні з тваринами групи контрольної патології.

З метою визначення середньосмертельної дози (ЛД₅₀) було проведено вивчення гострої токсичності стоматологічного гелю №4 на 15 щурах при одноразовому внутрішньошлунковому введенні за методикою Т.В.Пастушенко зі співавт. [10]. Вивчення гострої токсичності на щурах при внутрішньошлунковому введенні проведено у наступних дозах: 500, 1000, 3000, 5000 та 15000 мг/кг (по 3 тварини у кожній групі). Якщо обсяг препарату перевищував 5 мл для щурів, введення проводили дрібно протягом доби. В період всього дослідження проводили спостереження за клінічними проявами інтоксикації (у разі їх виникнення): за загальним станом, змінами положення тіла, станом шкіри, кольором слизових оболонок, температурою тіла та окремими симптомами (міоз, сльозоточивість, діарея, зміни кольору сечі та фекалій, сонливість, судоми та ін.). Для розрахунку середньої летальної дози (ЛД₅₀) протягом 14 днів визначали кількість загиблих тварин у кожній групі і за допомогою таблиці визначали значення ЛД₅₀ [10].

Дослідження гострої подразнювальної дії були проведені на 6

Таблиця 2

Протизапальна активність зразків стоматологічних гелів на моделі зимозанового набряку стопи у щурів (n=40)

Досліджуваний об'єкт	Виразність набряку (% від вихідного об'єму лапи)							
	0,5 год		1 год		2 год		3 год	
	приріст об'єму стопи, у.о.	% активності	приріст об'єму стопи, у.о.	% активності	приріст об'єму стопи, у.о.	% активності	приріст об'єму стопи, у.о.	% активності
Контрольна патологія	18,3±0,7	-	20,7±1,7	-	28,4±1,2	-	32,2±1,5	-
Метрогіл Дента	15,6±0,8	14,75	18,1±0,8	12,56	25,5±1,3	10,21	29,4±1,5	8,70
Гель №3	16,1±0,7	12,02	18,6±0,9	10,14	26,1±1,2	8,10	30,2±1,2	6,21
Гель №4	15,3±0,6	16,39	17,8±1,0	14,01	24,5±1,4	13,73	28,6±1,1	11,18

морських свинках, яким за 24 год до нанесення досліджуваного гелю на дорзальній поверхні тіла ножицями ретельно вистригали шерсть [6]. Підготовлена поверхня була розділена на 3 сектори, на які наносили досліджуваний гель, препарат порівняння “Метрогіл Дента” та негативний контроль (ділянка інтактної шкіри). Гелі наносили в нерозведеному вигляді по 0,5 г на марлеву пов'язку з наступною аплікацією на шкіру. Після завершення 24-годинної експозиції ділянка нанесення на шкіру гелю промивається водою. Спостереження за шкірою проводять на 25, 48 та 72 години після аплікації. Визначають наявність струпу, еритеми, набряку.

Результати та їх обговорення

Результати скринінгових досліджень протизапальної дії зразків стоматологічних гелів на моделі карагенінового набряку кінцівок у мишей представлені в табл. 1.

Згідно з результатами досліджень найвищу антиексудативну активність проявив гель №4, що містить у своєму складі хондроїтину сульфат 1% та ефірні олії чайного дерева та евкаліпту по 2%. Дещо поступався гелю №4 препарат порівняння — “Метрогіл Дента”, який виявив активність на рівні 20,43%, що в 1,5 рази нижче за активність зазначеного гелю. Зразок гелю №3 зі вмістом хондроїтину сульфату 1,5% виявив активність 18,28%. Гелі №3 та №4 відібрані нами для прове-

дення наступних досліджень з вивчення їх впливу на ліпооксигеназний компонент запальної реакції.

Результати дослідження протизапальної активності відібраних стоматологічних гелів на моделі зимозанового набряку у щурів наведені в табл. 2.

Згідно з отриманими результатами експериментальні зразки є переважно інгібіторами циклооксигенази та суттєво не впливають на лейкотриєнзалежну фазу запалення. Серед досліджуваних об'єктів найвищу активність виявив гель №4, у якого найвищі показники активності відмічались через 0,5 год після нанесення та поступово знижувалися із часом, досягаючи рівня 11,18% на 3 годину експерименту.

Результати дослідження загальнотоксичних властивостей стоматологічного гелю (зразок №4) представлені в табл. 3.

Результати проведених досліджень свідчать, що протягом всього дослідження не зареєстровано жодного випадку летальності щу-

рів у експериментальних групах. Відсутність летальності тварин дозволяє вважати, що значення LD₅₀ для стоматологічного гелю №4 перевищує 15000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні. Відповідно до класифікації К.К.Сидорова [11] він може бути віднесений до VI класу — “відносно нешкідливі речовини”.

При проведенні досліджень гострої подразнювальної дії стоматологічного гелю №4 та препарату порівняння “Метрогіл Дента” на шкіру морських свинок за весь період спостережень у жодної з тварин не було зафіксовано еритеми, струпу чи набряку. Таким чином, індекс прямого подразнення шкіри склав 0 балів для обох досліджуваних об'єктів.

ВИСНОВКИ

1. На підставі проведених фармакологічних досліджень обґрунтовано оптимальні концентрації активних речовин у складі розробленої гелевої основи: 1% хондроїтину сульфату, по 2% ефірних олій чайного дерева та евкаліпту (зразок №4).

Таблиця 3

Показники летальності щурів при вивченні гострої токсичності зразка гелю №4 при внутрішньошлунковому введенні (n=15)

Доза, мг/кг	Кількість тварин	Досліджуваний ефект, загибель тварин/кількість тварин
500	3	0/3
1000	3	0/3
3000	3	0/3
5000	3	0/3
15000	3	0/3

2. Для зразка стоматологічного гелю №4 встановлено високий рівень протизапальної активності.

3. Зразок гелю №4 відноситься до VI класу токсичності ($LD_{50} > 15000$ мг/кг при внутрішньошлунковому введенні у щурів).

4. Дослідження гострої подразнювальної дії показали, що гель №4 не викликає прямого подразнення шкіри у тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глыбина Т.А., Ларионов Е.В. // *Стоматол. сегодня.* — 2000. — №2. — С. 14-18.
2. Давтян Л.Л. *Науково-практичне обґрунтування технології м'яких лікарських форм для стоматології: Дис. ... д-ра фарм. наук.* — К., 2006. — 304 с.
3. Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В. *Заболевания пародонта.* — К., 2000. — 464 с.
4. Дикий І.Л., Тихонов О.І., Козир Г.Р. та ін. // *Вісник фармації.* — 2003. — №2 (34). — С. 57-61.
5. Дроговоз С.М., Зупанец І.А., Мохорт Н.А. и др. *Экспериментальное (доклиническое) изучение фармакологических веществ, рекомендуемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств* // В кн. *Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рекоменд.* / Под ред. А.В. Стефанова. — К., 2002. — С. 311-326.
6. Коваленко В.М., Ципкун А.Г. *Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів: Метод. рекоменд.* — К., 2002. — 54 с.
7. Лебединець О.В., Баранова І.І. // *Укр. вісник психоневрол. (додаток).* — 2009. — Т. 17, вип. 2 (59). — С. 167.
8. Лебединець О.В., Баранова І.І., Грубник І.М. // *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* — 2010. — Вип. 13, №1. — С. 55-57.
9. Лебединець О.В., Баранова І.І., Петровська Л.С. // *Укр. журн. клін. та лаборатор. медицини.* — 2010. — Т. 5, №3. — С. 57-60.
10. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А., Пилипенко Ю.А. // *Гигиена и санитария.* — 1985. — №6. — С. 46-48.
11. Сидоров К.К. *О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения.* — В кн.: *Токсикология новых промышленных химических веществ.* — М., 1973. — Вып. 13. — С. 47-57.
12. Руденко В.В. // *Укр. мед. часопис.* — 2005. — №2 (46). — С. 110-112.
13. Чекман И.С., Липкан Г.Н. *Растительные лекарственные средства.* — К., 1993. — 384 с.
14. Шульга Л.И. // *Матер. VIII съезда фармац. работников республики Беларусь, 8-9 апр. 2010 г.* — Витебск, 2010. — С. 148-150.
15. Darby I., Curtis M. // *Periodontal 2000.* — 2001. — №26. — P. 33-53.
16. Diedrich C. M., Simons A. *Das Teebaumol Praxisbuch.* — Muenchen: Verlag Schrz., 1995. — 154 S.
17. Ebersole J.L., Taubman M.A. // *Periodontal.* — 2000. — №5. — P. 112-141.
18. Slits J., Winkelhoff A. // *J. Calif. Dent. Assoc.* — 1993. — Vol. 21. — P. 51-56.

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-87-75.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 14.02.2011 р.